Über die Wirksamkeit eines lipoidmobilisierenden Faktors der menschlichen Hypophyse

Untersuchungen am isolierten Rattenfettgewebe

VOLKER BARTH

1960

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545802_0050

DISSERTATIONS- UND FOTODRUCK FRANK · 8 München 13 · Telefon 597 397 [52 46 07]

Aus der II. Medizinischen Klinik der Universität München

Direktor: Prof. Dr. Dr. G. Bodechtel

ÜBER DIE WIRKSAMKEIT EINES LIPOIDMOBILISIERENDEN FAKTORS DER MENSCHLICHEN HYPOPHYSE

Untersuchungen am isolierten Rattenfettgewebe

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

Zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Volker Barth aus
Lenggries/Obb.

München
1968

Berichterstatter: Professor Dr. med. K. Schwarz

Mitberichterstatter: Professor Dr.Dr. G. Bodechtel

Dekan : Professor Dr. F. Holle

Tag der mündlichen Prüfung: 23.7.1968

UNIV. LEIDEN BIBL.

Meinen Eltern gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Einleitung.....	1
Methodik und Material.....	14
Ergebnisse.....	22
Diskussion.....	33
Zusammenfassung.....	39
Literaturverzeichnis.....	40
Dank.....	48
Lebenslauf.....	49
Anhang.....	50

ÜBER DIE WIRKSAMKEIT EINES LIPOIDMOBILISIERENDEN FAKTORS DER MENSCHLICHEN HYPOPHYSE

Untersuchungen am isolierten Rattenfettgewebe

Jahrzehntelang hielt man das Fettgewebe für einen sehr stoffwechselträgen Körperanteil. Zu dieser Ansicht kam man auf Grund histologischer Untersuchungen der Struktur des Fettgewebes. Das Fettgewebe besteht zu 95% aus mehr oder minder großen Fettröpfchen, während nur 5% Bindegewebe und Blutgefäße ausmachen. Neuere elektronenmikroskopische Untersuchungen zeigten jedoch in einigen Zellräumen sehr rasch ablaufende Veränderungen (1,2). Offensichtlich besteht das Fettgewebe aus zwei "Compartements": Der eine Anteil tauscht gespeichertes Fett nur sehr langsam aus, der andere nimmt am Stoffwechsel sehr intensiv teil und reagiert auf die aktuellen Schwankungen von Angebot und Bedarf sofort (3).

Die engen Verknüpfungen zwischen Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel innerhalb der Fettzelle sind in ihren wesentlichen und hier interessierenden Schritten schematisch in Abbildung 1 dargestellt (4).

Die Triglyzeride des Fettgewebes stellen eine potentielle Energiequelle dar. Wenn der Organismus bei Nahrungsmangel oder körperlicher Anstrengung von seinen Fettreserven Gebrauch machen will, muß er sie mobilisieren. Unter Wirkung von Lipasen werden die in der Fettzelle deponierten Triglyceride in Glyzerin und in freie, nichtveresterte Fettsäuren (NFS) gespalten. Beide Substanzen werden in das Blut abgegeben und dienen als Energiesubstrat (5). Die große Bedeutung beider Metaboliten läßt sich an ihrem weiteren Schicksal im Organismus ableiten.

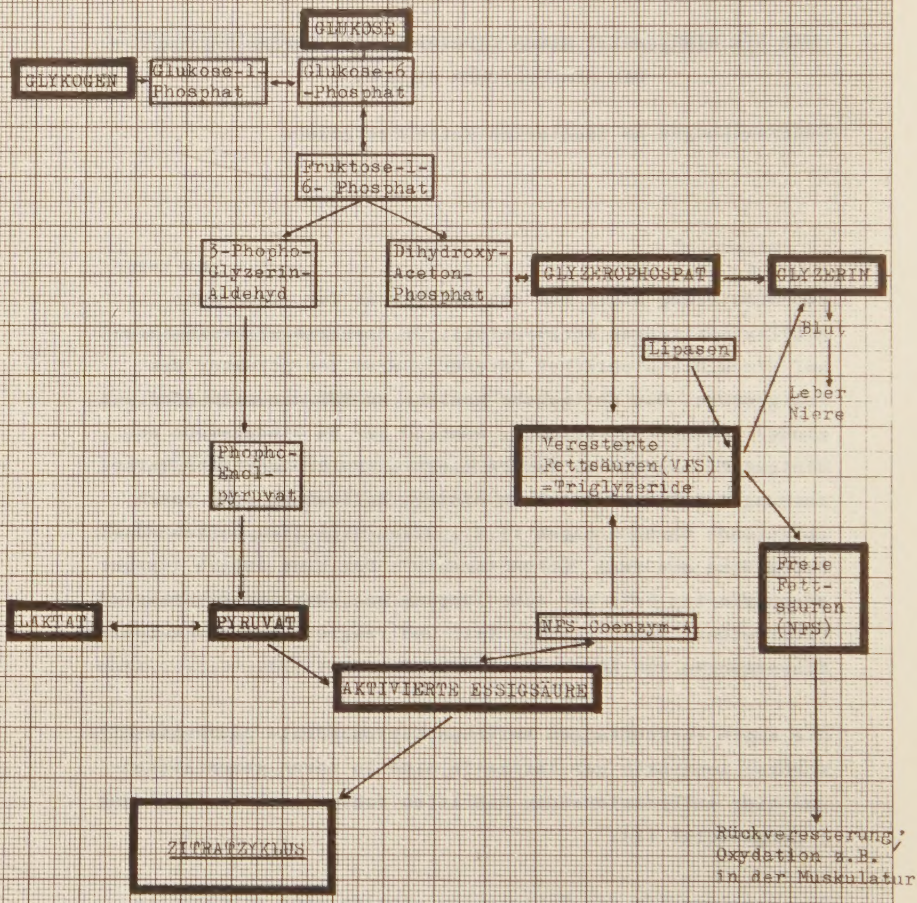


ABB. 1

Der intermediäre Stoffwechsel der Fettzelle, modifiziert nach KARLSON (4)

Nichtveresterte Fettsäuren

Die nichtveresterten oder freien Fettsäuren stellen die eigentliche Transportform des Fettes von den Depots zu den Stellen des Verbrauches dar. Da die Fettsäuren nicht wasserlöslich sind, werden sie im Blut an Albumin als Trägerprotein gekoppelt transportiert (6). In-vitro-Versuche von CAMPBELL et. al. zeigten, daß ohne Plasmaalbumin NFS im Fettgewebe kumulieren und nicht in den Puffer abgegeben werden(7). Deshalb verlassen die freien Fettsäuren das Fettgewebe nur teilweise. Ihrem Austritt in das Blut sind durch die geringe Wasserlöslichkeit und die begrenzte Aufnahmefähigkeit der Albumine Grenzen gesetzt (6). Hypalbuminämie beim Menschen hat eine verminderte Fettsäurefreisetzung zur Folge (7).

Die Abwanderungsgeschwindigkeit der freien Fettsäuren aus dem Plasma in den extrazellulären Raum scheint mit dem Ernährungszustand des Individuums zusammenzuhängen.

Beim Verlassen der Blutbahn lösen sich die Fettsäuren von den Albuminen und diffundieren durch die Gefäßwand. Die Diffusion geht sehr schnell vonstatten. Extravasal liegende Albumine mit derselben Affinität wie die intravasalen nehmen die Fettsäuren auf und führen sie den Körperzellen zur Oxydation zu (8). Nicht alle Fettsäuren werden sofort oxydiert. Ein großer Teil von ihnen gelangt in die Blutbahn zurück und zirkuliert noch mehrmals, bevor er oxydiert oder zu Triglyzeriden resynthetisiert wird. So verlassen mehr freie Fettsäuren das Gefäßsystem als im Augenblick für den Energiestoffwechsel benötigt werden (7).

Obgleich die nichtveresterten Fettsäuren im Blute nur 5% der Gesamtlipide ausmachen, haben sie mit einer Halbwertzeit von nur 2 bis 3 Minuten eine erhebliche Umsatzrate (FREDERIKSON und Mitarb. 8,11). Das bedeutet, daß die freien Fettsäuren trotz der niederen Serumkonzentration beim Menschen im Nüchternzustand für mehr als die Hälfte des gesamten Energiebedarfes aufkommen können (8).

Besonders Skelettmuskulatur und Hermuskel decken sehr große Teile ihres Energiebedarfes aus nichtveresterten Fettsäuren (8). Lediglich ein ungenutzter Rest wird zu Triglyzeriden resynthetisiert (12-14). Isotopenuntersuchungen von SPITZER und GOLD (14) zeigten, daß der ruhende Skelettmuskel bereits 43 % der zugeführten NFS verbrennt und bei elektrischer Reizung, proportional zur erhöhten Muskeldurchblutung, der NFS-Bedarf weiter ansteigt.

Der Herzmuskel deckt den größten Teil seines Energiebedarfes durch Oxydation von nichtveresterten Fettsäuren. 96 % der durch Perfusion dem Rattenherzen angebotenen nichtveresterten Fettsäuren fanden sich als Triglyzeride im Herzmuskel wieder (15).

SHIPP und Mitarb. (16) fanden bei Versuchen am Rattenherzmuskel, daß bei Unterkühlung die Oxydation von NFS weit weniger herabgesetzt wurde als die Oxydation von Glukose. Ihre Versuche zeigten, daß der Herzmuskel besonders bei Unterkühlung aus endo- oder exogen angebotenen Lipiden seinen einzigen Brennstoff bezieht

Der NFS-Verbrauch anderer Organe wie z.B. der Niere (9%) oder der roten Blutkörperchen (1%) ist dagegen relativ gering (8,11,16).

Glyzerin

Neben nichtveresterten Fettsäuren wird bei der hydrolytischen Spaltung der Fette Glyzerin freigesetzt. Im Gegensatz zu nichtveresterten Fettsäuren kann Glyzerin innerhalb des Fettgewebes nicht zur Resynthese von Triglyzeriden verwendet werden. Nach WIELAND und Mitarb. (17) fehlt der Fettzelle das Enzym Glyzerokinase, sodaß Glyzerin nicht zu Alpha-Glyzerophosphat aktiviert werden kann. Nur Alpha-Glyzerophosphat kann jedoch mit nichtveresterten Fettsäuren unter Bildung von Triglyzeriden reagieren. Daher verläßt durch Lipolyse freigesetztes Glyzerin das Fettgewebe sofort und vollständig, zumal es gut wasserlöslich und somit unabhängig von einer Trägersubstanz ist.

Jeder gesteigerte Fettabbau ist mit einem Glyzerinanstieg im Serum verbunden. Die Glyzerin-release ins Blut ist somit ein guter Index für den Triglyzerid-Abbau innerhalb des Fettgewebes.

Da Glyzerin in naher Beziehung zu den Kohlenhydraten steht, kann es zum Aufbau von Glukose oder Fruktose verwandt oder nach Phophorylierung in Geweben, die reich an Glyzerokinase sind, auf demselben Wege wie Glukose abgebaut werden (Abb.1). WIELAND und Mitarb. (17) fand jedoch Glyzerokinase in ausreichender Menge nur in Leber und Niere, sodaß die Glyzerinverwertung im wesentlichen auf diese beiden Organe beschränkt zu sein scheint. Der Leberglyzerin-Verbrauch beim Menschen wurde von SCHWARZ und Mitarb. (18) untersucht. Dabei zeigte sich, daß peroral aufgenommenes Glyzerin bereits nach ca. 20 Min. zum großen Teil aus dem Magen-Darm-Trakt resorbiert und über die Leber in das periphere Blut gelangt war. Während der Leberpassage war bereits ein beachtlicher Teil des Glyzerins umgesetzt worden.
Die Bestimmung der Schwundrate nach intravenöser Injektion von Glyzerin beim Menschen ergabeeine sehr kurze Halbwertzeit von nur zwei Minuten (18).

Bildung und Deponierung von Fett im Fettgewebe sowie Freisetzung von Fett sind hormonalen Steuerungen unterworfen. Es zeigte sich, daß Insulin die Neubildung von Fett aus Glukose bedeutend fördert, indem unter Insulin- Einwirkung vom Fettgewebe vermehrt Glukose aufgenommen wird und unter Bildung von Fettsäuren und Alpha-Glyzerophosphat Triglyzeride, die das eigentliche Depotfett darstellen, gebildet werden (19,20,21). Gleichzeitig wirkt Insulin hemmend auf die Lipolyse (22,23,24,25). Während Insulin das einzige bisher bekannte Hormon ist, welches die Lipogenese fördert, wird die Lipolyse, die Freisetzung von Fetten aus den Fettdepots, von einer Vielzahl von Hormonen positiv beeinflußt.

So führen z.B. Glukagon, Schilddrusenhormon und Adrenalin sowie Nor-Adrenalin zu einer Hydrolyse von Depotfett mit Abgabe von nichtveresterten Fettsäuren und Glyzerin in die Blutbahn (25,26, 27,28,29,30,31). Lipolytisch wirken weiterhin

TSH, STH und ACTH, ebenso MSH sowie die Hypophysenhinterlappenhormone (32,33,34). Daß Hypophysenhormone oder Faktoren der Hypophyse den Fettstoffwechsel beeinflussen, wurde erstmals 1936 von BEST und CAMPBELL (35) vermutet. Diese Autoren beobachteten bei Mäusen nach subkutaner Gabe von weitgehend ungereinigten Hypophysenextrakten ein Ansteigen des Leberfettgehaltes. ANSELMINO und Mitarb. (36) konnten verschiedene Fraktionen aus Hypophysenvorderlappenextrakten gewinnen, die u. a. zu einer Steigerung der Ketokörper im Blut sowie zu einer Vermehrung von ungesättigten Fettsäuren in der Leber und einer Zunahme des Leberfettgehaltes führten.

Im Laufe der Zeit wurden alle bisher bekannten Hypophysenhormone hinsichtlich ihres Einflußes auf den Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel untersucht. Dabei erregten besonders ACTH und STH Interesse, die sowohl in vivo, als auch in vitro stark lipolytisch wirksam waren.

STH

Nach STH-Gabe steigt der Serumspiegel der nichtveresterten Fettsäuren an. Dieser Anstieg beginnt ein bis zwei Stunden nach intravenöser Verabreichung von STH und erreicht nach etwa drei bis vier Stunden sein Maximum (25,33,37).

WINKLER und Mitarb. (76) gaben Hunden bovines Wachstumshormon in täglichen Dosen von 1 mg/kg Körpergewicht. Sie sahen nach drei bis neun Stunden eine signifikante Zunahme des NFS-Gehaltes im Serum. Trotz täglich fortgesetzter STH-Gaben sank der Serumspiegel nach einigen Tagen langsam wieder ab und erreichte nach etwa einer Woche trotz fortgesetzter STH-Gaben wieder seinen Ausgangswert.

Auffällig ist die relative Unempfindlichkeit von isoliertem Fettgewebe gegenüber STH im Vergleich zu anderen lipolytisch wirksamen Hormonen wie ACTH und Adrenalin (38). SCHWARZ und Mitarb. (37,38) fanden bei einer STH-Konzentration von 4 Gamma/ml glukosehaltigen Inkubationsmediums eine gegenüber Kontrollversuchen noch leicht erhöhte NFS-Aufnahme in das Fettgewebe, während bei 40 Gamma/ml neben einer erheblichen NFS-Freisetzung besonders der starke Glyzerin-release des Fettgewebes auffiel. Nach

i.v. Injektionen von 10mg STH stieg bei Normalpersonen dagegen der NFS-Spiegel im Serum stärker an als der Glyzerinspiegel (38).

Es zeigte sich, daß beim Menschen nur menschliches oder von Affen gewonnenes STH wirksam ist. Es besteht somit eine deutliche Spezifität zwischen verschiedenen Gattungen (39).

Mit großer Wahrscheinlichkeit hat STH in der Regulation des Fettstoffwechsels eine physiologische Bedeutung (39).

Durch Wachstumshormon wird die Freisetzung von NFS gesteigert. Patienten mit einer Akromegalie weisen einen erhöhten NFS-Plasmaspiegel auf (39). Dabei ist auffällig, daß Akromegale niemals eine Fettsucht entwickeln. Erhöhte STH-Spiegel wurden immer dann gefunden, wenn der Organismus zur Deckung seines Energiebedarfes NFS benötigte. So wurden STH-Anstiege während Hypoglykämien beobachtet. Hier führt der rasche Blutzuckerabfall zur vermehrten Sekretion von STH. Ebenso finden sich die STH-Spiegel bei prolongiertem Fasten sowie bei körperlicher Tätigkeit erhöht. In diesen Situationen wird NFS als Energiesubstrat benötigt, sodaß STH als ein physiologischer Faktor bezeichnet werden kann, der bei Bedarf an NFS die Lipolyse fördert. Der genaue Wirkungsmechanismus, über den STH eine Lipolyse hervorruft, ist nicht sicher bekannt. Da die Lipolyse nach STH_Gaben erst nach einigen Stunden einsetzt, ist zu vermuten, daß der Angriffspunkt ein anderer ist als nach Gabe von Adrenalin oder ACTH, die einen Sofortanstieg der NFS bewirken (39).

LARON und Mitarb. (40) fanden, daß mit Pepsin angedautes menschliches Wachstumshormon sowohl in vivo als auch in vitro eine stärkere lipolytische Aktivität besitzt als unbehandeltes Wachstumshormon. Diese Beobachtung ließ vermuten, daß die Fettstoffwechselaktivität des STH nicht unbedingt an das komplette Hormonmolekül gebunden ist, sondern daß Hormonsequester evtl. lipolytisch wirksamer sind als das intakte Hormonmolekül. Kürzlich gelang es TRYGSTAD und Mitarb. (41), menschliches Wachstumshormon in eine nur wachstumsfördernde und eine nur lipolytisch wirksame Fraktion aufzuspalten.

ACTH

LEBOWITZ und Mitarb. (42) postulierten, daß die fettsäuremobilisierende Wirkung von ACTH durch endogenes Nor- Adrenalin vermittelt würde, da die Vorbehandlung mit Reserpin die lipolytische Wirkung des ACTH verhindert. Neuere Arbeiten zeigten dagegen, daß die Veränderung des Nor-Adrenalin-Gehaltes im Fettgewebe weder in vivo noch in vitro einen Einfluß auf die lipolytische Wirksamkeit von ACTH hatte (43).

Der Plasma-NFS-Spiegel der Maus steigt unter ACTH-Gaben innerhalb von Sekunden an und sinkt danach wieder ab (42). Diese NFS-Freisetzung wird durch Glukose im Blut gebremst (34).

SCHWARZ, WEINGES und Mitarb. beobachteten nach intravenöser Gabe von 40 I.E. ACTH bei Normalpersonen einen mäßigen Anstieg der NFS bei deutlicher Zunahme des Serumglyzerin-Spiegels. Bei adrenalektomierten Patienten kam es bei gleicher Dosierung zu einem geringen Absinken des NFS-Spiegels bei gleichzeitig wesentlich höherem Anstieg des Serumglyzerin-Spiegels, der 5 Min. nach ACTH-Injektion 126% über dem Ausgangswert lag. Über Lipolyseversuche unter ACTH am isolierten Fettgewebe berichteten erstmals WHITE und ENGEL (44). WEINGES, SCHWARZ und Mitarb. konnten am isolierten Rattenfettgewebe mit 0,04 I.E. ACTH/ml Puffermedium deutlich lipolytische Effekte erzielen, wobei wiederum der Glyzerin-release die NFS-Zunahme im Puffermedium übertraf.

Die lipolytische Wirkung von ACTH unterliegt von Tier zu Tier großen Schwankungen. Die minimal wirksamen Dosen sind von Tier zu Tier sehr unterschiedlich. Am Rattenfettgewebe konnten HOLLENBERG und Mitarb. (34) schon bei Dosen von 0,001-0,003 Gamma ACTH/ml Puffermedium einen lipolytischen Effekt feststellen. Die meisten Versuche mit ACTH wurden bisher am Rattenfettgewebe durchgeführt. ACTH wirkt jedoch auch auf das Fettgewebe von Maus, Kaninchen, Meerschweinchen und Hamster lipolytisch. Es hat jedoch kaum einen Effekt auf das Fettgewebe von Hund und Schwein (42). Ferner unterliegt die lipolytische Wirkung von ACTH auch bei der gleichen Tierart starken jahreszeitlichen Schwankungen. So fanden LEBOWITZ und ENGEL (42) bei Ratten im Sommer eine niedrigere Schwellendosis als im Winter. Offensichtlich waren die Tiere im Sommer gegen ACTH empfindlicher und

sprachen auf eine bestimmte ACTH-Dosis besser an als im Winter.

Trotz der starken lipolytischen Wirksamkeit, die ACTH bei in-vitro-Versuchen am isolierten Fettgewebe zeigte, gelang es bisher nicht festzustellen, ob ACTH in physiologischen Dosen einen Einfluß auf die Lipolyse und Regulation des Fettstoffwechsels besitzt. In-vivo-Versuche an Ratte und Maus, die die Förderung der Lipolyse zeigten, waren mit unphysiologisch hohen ACTH-Dosen durchgeführt worden (38,45).

TSH

Wie ACTH wirkt auch TSH in vitro stark lipolytisch. Jedoch fehlt ebenso wie beim ACTH der Beweis, daß endogenes TSH unter physiologischen Bedingungen beim Menschen eine fettmobilisierende Wirkung besitzt (32).

Außer den allgemeinbekannten Hypophysenhormonen scheint die Hypophyse aber weitere fettstoffwechselaktive Substanzen zu enthalten. So konnten bereits ANSELMINO und Mitarb. (36) die von ihnen gewonnenen fettmobilisierenden Substanzen der Hypophyse von den gonadotropen Hormonen, dem TSH und dem ACTH abgrenzen. Sie postulierten daher die Existenz eines eigenen "Fettstoffwechselhormones" der Hypophyse.

Mit Verbesserung der methodischen Möglichkeiten gelang es in den letzten Jahren mehreren Arbeitsgruppen, aus tierischen und menschlichen Hypophysen sowie aus Rückständen bei der Gewinnung von STH oder ACTH Polypeptide zu gewinnen, die keine oder fast keine der bekannten Hypophysenhormone mehr enthielten, jedoch stark fettmobilisierend wirkten. Die einzelnen Substanzen zeigten dabei Unterschiede hinsichtlich ihrer Wirksamkeit in vivo wie in vitro bei den einzelnen Tierspiezies sowie hinsichtlich ihrer Verträglichkeit.

Fraktion H

RUDMAN und Mitarb. (46-54) gewannen aus Hypophysen von Hunden, Schweinen, Schafen und Rindern erst einen Rohextrakt, sodann durch bestimmte Extraktions- , Präzipitations- und Elektrophorese-Verfahren eine von ihnen als Fraktion H bezeichnete

Substanz, die nach subkutaner Gabe bei Kaninchen deutliche lipolytische Eigenschaften aufwies (47). Aus 1 g Hypophysengewebe gewann RUDMAN und Mitarb. 8mg Fraktion H. Diese war weitgehend frei von den bekannten Hypophysenhormonen. Sie enthielt nur noch 0,007% Oxytocin, 0,8% STH, 0,00005% MSH und keine Spuren der anderen tropen Hormone (49). 0,125 mg von Fraktion H bewirkten beim Kaninchen einen 6-fachen NFS-Anstieg im Serum. Diese Konzentrationszunahme der freien Fettsäuren hielt über 8 Stunden an (51). Ausserdem stiegen die Gesamtlipide auf das 3-4 fache des Ausgangswertes (49). Die Lipämie ließ sich durch gleichzeitige ACTH-Injektionen noch deutlich steigern. Der Triglyzerid-Gehalt der Leber nahm dabei auf das 5-fache des Ausgangswertes zu (47).

Fraktion H zeigte eine ausgesprochene Artspezifität, wobei z.B. Fraktion H vom Schwein bei Meerschweinchen, Kaninchen und Küken, nicht dagegen bei der Ratte, der Maus und dem Schwein selbst lipolytisch wirksam war (50,51).

Peptid I und Peptid II

FRIESEN und Mitarb. (55) konnten ebenfalls aus Schweinehypophysen zwei Peptide, von ihnen Peptid I und Peptid II bezeichnet, gewinnen, die wiederum beim Kaninchen deutlich lipolytisch wirkten. In vitro führten bereits 2 Gamma dieser Substanz am isolierten Fettgewebe zu einer Freisetzung von nichtveresterten Fettsäuren. Beim Kaninchen stieg nach intravenöser Injektion von 10 Gamma eines Gemisches von Peptid I und Peptid II die Plasmakonzentration freier Fettsäuren innerhalb von 5 Min. auf das Fünffache des Ausgangswertes an. Subkutane Injektionen von 2,5 Gamma führten nach 12 bis 15 Stunden zu einer Lipämie. Beim Menschen war der lipolytische Effekt unbedeutend (56). 5-25 mg bewirkten lediglich einen geringfügigen NFS-Anstieg innerhalb einer Stunde. Ebensowenig gelang es, mit Aufbereitungen von Peptid I und II aus menschlichen Hypophysen beim Menschen meßbare Plasma-NFS-Anstiege hervorzurufen.

Peptid I fand sich nicht in frischen Hypophysenextrakten. Man nahm deshalb an, daß es aus Vorstufen bei der Extraktion entstehen würde (57). Molekular-Gewichts-Untersuchungen sprachen

dafür, daß Peptid I ein wesentlich geringeres Molekulargewicht als Peptid II besitzen müsse. Man ermittelte schließlich das Molekulargewicht von Peptid I mit etwa 5000. Peptid I erwies sich als wesentlich wirksamer als Peptid II (55). Peptid II gewann man aus Hypophysen-Hinterlappen-Extrakten (57). Stärkegel-Elektrophoresen zeigten, daß Peptid II mit RUDMAN's Fraktion H weitgehend identisch ist (55).

Lipotropin

Bei der Gewinnung von ACTH konnten BIRK, LI und Mitarb. (58-61).aus Schafshypophysen ebenfalls ein fettstoffwechselaktives Polypeptid isolieren, das sie Lipotropin nannten. Es gelang LI, das Molekulargewicht dieses Peptids mit 6600 zu bestimmen. Es besteht aus 59 Aminosäuren und unterscheidet sich struktur-chemisch von ACTH. So besitzt es als NH_2-ständige Aminosäure Glutamin an Stelle von Serin und als COOH- endständige Aminosäure Lysin an Stelle von Phenyl-Alanin.

LMF 610

SIM und Mitarb. (62) isolierten aus Rückständen, die bei der ACTH-Produktion aus Scheinehypophysen anfielen, ebenfalls eine fettstoffwechselaktive Substanz (LMF 610), die wiederum beim Kaninchen einen NFS- und Glyzerin-Anstieg im Serum hervorrief.

Dabei bewirkten Dosen von 150-300 Gamma hauptsächlich einen NFS-Anstieg, Dosen von 500-700 Gamma sowohl einen Anstieg der freien Fettsäuren als auch des Glyzerins. Höchste Dosen von 3000-15000 Gamma führten zu einer weiteren Zunahme der Glyzerin-Konzentration, während der NFS-Spiegel nicht weiter anstieg. SIM's Präparation wirkte hauptsächlich beim Kaninchen fettstoffwechselaktiv, weniger beim Meerschweinchen, überhaupt nicht bei der Ratte und beim Hund. In einem am menschlichen Fettgewebe ausgeführten in-vitro-Versuch wurde Fettstoffwechsel-Aktivität beobachtet (63).

Fettstoffwechselaktive Urinextrakte

WEIL und STETTEN (64) konnten aus dem Urin hungernder Kaninchen einen alkalischen Extrakt gewinnen, der bei Mäusen zu einer Vermehrung des Leberfettes führte. Im Urin normal gefütterter Tiere fand sich dieser Stoff nicht.

CHALMERS und Mitarb. (64,65) extrahierten mit gleicher Methode aus dem Urin hungernder Versuchspersonen eine Substanz, nach deren Injektion bei der Maus ein Anstieg des Leberfettgehaltes, eine Mobilisierung des Fettes aus den Fettdepots, eine erhöhte Gesamtumsatzrate im Fettstoffwechsel und, über längere Zeit gegeben, ein Gewichtsverlust ohne Appetiteinschränkung zu beobachten war. Auch zeigte sich eine vorübergehende Hypoglykämie und eine Ketonämie.

Diese Substanz wirkte auch in-vitro am Rattenfettgewebe in Konzentrationen unter 1 Gamma lipolytisch (65). Bei diesem Extrakt handelte es sich um ein Polypeptid, das weder mit STH noch mit ACTH identisch war. Diese fettstoffwechselaktive Substanz fand sich hauptsächlich am ersten Fastentag im Urin hungernder Versuchspersonen (66).

Die Wirkungslosigkeit von Extrakten aus dem Urin hypophysektomierter Personen sowie von Patienten mit Hypopituitarismus wies auf die Hypophyse als Ursprungsort dieser lipolytisch wirkenden Substanzen hin (65).

STEVENSON und Mitarb. (67) und KARVINEN und Mitarbeiter (68) gewannen aus dem Urin kachektischer und hungernder Personen einen Extrakt, der bei der Maus eine Hyperglykämie hervorrief und hemmend in den Fettstoffwechsel eingriff (69). Dieser Faktor führte bei der Maus nach subkutaner Injektion mit Regelmäßigkeit im Blut zu einer Senkung der Ketonkörper. Der Leberfettgehalt wurde herabgesetzt und eine schwache, jedoch regelmäßig auftretende Hyperglykämie herbeigeführt. Bei der Ratte hemmt der Faktor in-vitro die Freisetzung nicht veresterter Fettsäuren.

Lipoid-Mobilisierender-Faktor (LMF) menschlicher Hypophysen

Für die vorliegende Arbeit stand ein aus menschlichen Hypo-

physen gewonnenes Polypeptid der Fa. ORGANON unter der Bezeichnung LMF zur Verfügung, dessen lipolytische Wirksamkeit am isolierten Rattenfettgewebe untersucht werden sollte. Dieses Polypeptid wurde nach der von SIM (62) angegebenen Methode durch Extraktion mit Ammoniak und Gel-Filtration gewonnen. Es enthält nur noch geringe Spuren anderer troper Hormone. Der Gehalt an Vasopressin liegt z.B. unter 7 mE/mg LMF. ACTH ist nur in einer Konzentration von 35 mE/mg LMF enthalten. 1mg LMF zeigt eine Aktivität von 10 Gamma Alpha-MSH. Weitere Hypophysenhormone waren auch in Spuren nicht nachweisbar.

Parallel zu den In-vitro-Versuchen am isolierten Fettgewebe, über die hier zu berichten sein wird, wurde diese fettmobilisierende Substanz auch am Menschen geprüft. Hierüber wird jedoch anderwärtig berichtet. (79)

MATERIAL UND METHODIK

Verwandt wurden junge, männliche, 120 bis 140 g schwere Sprague-Dawley-Ratten, die ad libidum gefüttert waren. Nach Dekapitation und Entbluten wurde das epididymale Fettgewebe in Krebs-Ringer-Bikarbonat-Puffer unter Zusatz von 2 g% Humanalbumin und 250 mg% Glukose nach Belüften der Inkubationsgefäße mit Karbogen 3 Stunden im Warburg-Apparat unter Zusatz unterschiedlicher LMF-Mengen inkubiert. Für jeden aus 6 Doppelbestimmungen bestehenden Versuch wurden 12 Ratten verwandt. Jeder Fettgewebszipfel wurde in 6 Teilstücke zerschnitten, die gleichmäßig über sämtliche Inkubationsgefäße verteilt wurden. Hierdurch sollten nach Möglichkeit etwaige individuelle Unterschiede im Stoffwechselverhalten der einzelnen Tiere gegeneinander ausgeglichen werden. Durch Wiegen des Inkubationsgefäßes vor und nach Zusatz der Fettgewebsstückchen wurde das Gewicht des Fettgewebes ermittelt. Im Mittel enthielt jedes Inkubationsgefäß 278 $\pm$ 12 mg Fettgewebe. Nach Beendigung des Versuches wurde das Fettgewebe entfernt und der Gehalt des Inkubationsmediums an nichtveresterten Fettsäuren (NFS), freiem Glyzerin, veresterten Fettsäuren (VFS), Glukose, Lactat und Pyruvat bestimmt. Die Ergebnisse wurden mit den Ausgangswerten verglichen und die jeweilige Abweichung vom Leerwert pro 278 $\pm$ 12 mg Fettgewebe pro 3 Stunden pro Liter Puffer angegeben.

Eine Metabolit-Abgabe aus dem Fettgewebe wurde mit einem +, eine Metabolitaufnahme durch das Fettgewebe mit einem - vor den entsprechenden Tabellenwerten gekennzeichnet. Alle Bestimmungen wurden als Doppelbestimmungen durchgeführt. Bei jedem Versuch liefen Leerversuche und Ansätze, bei denen dem Puffermedium nur das Lösungsmittel von LMF zugesetzt war, mit. In einigen Versuchen wurde zu Kontrollzwecken unter gleichen Versuchsbedingungen anstelle von Fettgewebe dem Puffermedium Triolein zugesetzt.

Bestimmung der NFS nach DOLE und MEINERTZ (70)

Prinzip: Die Dreiermischung Heptan-Isopropylalkohol-Wasser stellt ein brauchbares Zweiphasensystem für die Extraktion langkettiger Fettsäuren aus Plasma oder Puffermedium dar. Werden die Lösungs-

mittelkomponenten im geeigneten Verhältnis miteinander gemischt, so trennen sich die einzelnen Phasen ohne Zentrifugation sehr schnell voneinander. Die langkettigen, weniger polaren freien Fettsäuren finden sich dann hauptsächlich in der oberen, nichtpolaren Heptan-Phase, die mehr polaren Säuren wie auch die meisten anderen organischen Säuren und Phospholipide dagegen in der unteren polaren Isopropylalkohol-Phase. Zur besseren Eiweißfällung wird die Extraktionslösung angesäuert.

Die die Fettsäuren enthaltende Heptan-Phase wird isoliert und ein Indikator zugegeben. Sie Säuren werden dann gegen Natronlauge titriert. Aus dem Laugenverbrauch wird auf die vorhandene Säuremenge geschlossen.

Durchführung: In einem Erlenmeyerkolben werden 2ml Inkubationsflüssigkeit mit 10 ml Extraktionslösung geschüttelt und 10 Min. stehen gelassen. Danach wird 6 ml Heptan und 4 ml Wasser zugegeben und nochmals geschüttelt. In je einem Erlenmeyerkolben stellt man sich noch einen Leerwert und einen Standardwert folgendermassen her:
Standardwert: Statt Inkubationsflüssigkeit nimmt man 2ml Wasser und 10 ml Extraktionslösung, anstelle von Heptan wird nach dem Schütteln 6 ml einer bekannten Standardlösung und 4 ml Wasser zugesetzt.
Leerwert: 2ml Wasser, 10ml Extraktionslösung, 6ml Heptan und 4ml Wasser werden in einem Erlenmeyerkolben gemischt.
Die Analyse, der Standard und der Leerwert werden nochmals 10 Min. geschüttelt. Danach schüttet man die Flüssigkeit in Reagenzgläser. Dort scheiden sich jetzt 2 Phasen. Von der oberen, der Heptan-Phase, werden 2 mal 3ml in je 2 Spitzgläser abpipettiert und mit 1ml Thymolblau als Indikator versetzt. Dieser setzt sich am Boden des Spitzglases ab. Die darüber stehende Heptan-Phase enthält die zu titrierenden freien Fettsäuren. Mittels eingeleiteten und vorgereinigten Stickstoffes werden beide Phasen miteinander vermischt und mit 0,018n NaOH bis zum Farbumschlag nach gelbgrün titriert.

Berechnung: Die Berechnung des Gehaltes an nichtveresterten Säuren erfolgt nach der Gleichung: μVal NFS=$\frac{585 \times \text{titrierter Wert}}{\text{Standardwert}}$

Lösungen und Reagenzien:

a) Extraktionslösung für die NFS: Es wird ein Gemisch aus 40 Teilen Isopropanol, 10 Teilen Heptan und 1 Teil Schwefelsäure (1n) hergestellt.

b) Zur Bereitung der Standardlösung werden 50 mg Palmitinsäure in 1 Liter Heptan gelöst. 1 Liter dieses Standards enthält dann 585 μVal NFS.

C) Der Indikator wird wie folgt angesetzt: 1 Teil einer 0,1%igen wässrigen Thymolblaulösung und 9 Teile absoluten Alkohols werden miteinander gemischt. Sie ergeben eine gelb-rote Lösung. Mit 0,018 n NaOH titriert man diese gelb-rote Lösung bis gut über den Farbumschlag nach grün. Dieser grünen Lösung werden pro ml Indikator 0,01 ml 0,018 n H_2SO_4 beigesetzt. Der Indikator ist jetzt wieder hellgelb und ist zum Gebrauch bereit.

Bei allen Versuchen wurde die Eiweißextraktion einfach durchgeführt.

Die Fehlerbreite der Methode betrug bei Vorversuchen $\pm$ 5,3 Sigma%. Bei Wiederauffindversuchen konnten 87% $\pm$ 5,8 einer eingesetzten und bekannten Palmitinsäuremenge wiedergefunden werden.

Bestimmung der veresterten Fettsäuren (VFS) nach RAPPORT und ALONZO (71)

Prinzip: In alkalischer Lösung wird bei Anwesenheit von VFS Hydroxylamin zu Hydroxamsäure umgewandelt, die mit einer Eisensalzlösung einen rotbraunen Farbstoff bildet. Die Stärke des Farbtones ist ein Indikator für den Gehalt an VFS.

Durchführung: 1 ml der zu untersuchenden Inkubationslösung wird mit 8,3 ml Methanol und 8,3 ml Chloroform zusammen in einem 50ml Zentrifugierglas geschüttelt. Bei 70°C wird das Glas 1-2 Min. ins Wasserbad gehalten, bis am Rande Bläschen aufsteigen. Sodann gibt man 8 ml Chloroform zu und schüttelt das Glas kräftig. Das Gemisch wird anschließend durch Faltenpapier in einen 50ml Meßzylinder mit Glasstopfen filtriert.

Es wird mit 0,5ml Chloroform nachgespült. 5 ml einer o,5 molaren Natriumhydrogenphosphat-Lösung werden zugegeben und nach kräftigem Schütteln über Nacht stehen gelassen. Am nächsten Morgen wird der Chloroformspiegel abgelesen, die obere Methanolschicht wird abgesaugt. 1ml Chloroform wird sodann von der Restlösung abgenommen und in ein Reagenzglas mit glattem Rand gegeben. Bei 50°- 60°C wird das Chloroform im Vakuum-Trockenschrank abgedampft. Der Rückstand wird mit 3 ml Äther geschwenkt. 0,1 ml einer schon vorher angesetzten alkalischen Lösung von NaOH und H_4ClNO wird zugegeben und dieser Ansatz leicht geschüttelt. Das Reagenzglas wird ca. 1 Min in ein 65°C heißes Wasserbad gestellt, wobei der Äther abdampft. Danach füllt man 6 ml Rapport-Lösung in das Reagenzglas und läßt dieses 30 Min. stehen. Am Eppendorf-Apparat ließt man danach die Extinktion dieser Lösung bei 546 µ gegen 95%igen Alkohol ab.
Von Anfang an läuft ein Leerwert mit.
Der Vorgang vom Ätherabdampfen im Wasserbad bis zum Hinzufügen von Rapport-Reagenz erfolgt in ca. 3 Min., wobei die Zeit mit der Stoppuhr gemessen und kontrolliert wird.

Lösungen und Reagenzien:

a) NaOH/H_4ClNO wird folgendermaßen hergestellt: 1g NaOH, 32,5 ml absoluter Alkohol und 1,7 ml Wasser werden gemischt. Desgleichen 1 g H_4ClNO, 32,3 ml absoluter Alkohol und 1,7 ml Wasser.
Je 8 ml dieser beiden Lösungen werden gemischt, kurz stehengelassen, abfiltriert und im zugestopften Reagenzglas im Eisschrank aufbewahrt.

b) Standard: Dieser besteht aus 36,05 mg Triolein, das in 100 ml Chloroform gelöst wird. Dann enthält 1ml Standard 1,21 µÄq VFS.

c) Rapportlösung:
Rapport I: 487 ml 95%iger Alkohol, 13 ml 70%ige Perchlorsäure und 0,5 g Eisenperchlorat werden gemischt.
Rapport II: 95%iger Alkohol.

Die Fehlerbreite der Methode betrug bei Vorversuchen 3,83 Sigma%. Wiedergefunden wurden bei Recovery-Versuchen 87,4 % ± 6,1 der eingesetzten Triolein-Menge.

Bestimmung des freien Glycerins nach KREUTZ (72)

Prinzip: Glyzerin wird in der durch Glyzerokinase (Gk) katalysierten, enzymatischen Reaktion durch ATP zu Glyzerophosphat phosphoryliert:

1) Glyzerin + ATP ----------> Glyzerophosphat und ADP

Durch das Enzym Pyruvatkinase wird das entstandene ADP bei Gegenwart von Phosphoenolpyruvat (PEP) wieder in ATP überführt, dabei entsteht Pyruvat:

2) PEP + ADP ----------> Pyruvat + ATP

Das entstandene Pyruvat wird unter Mitwirkung von reduziertem DPNH durch das Enzym Lactatdehydrogenase in Milchsäure überfuhrt, wobei DPNH zu DPN^+ oxydiert wird:

3) Pyruvat + DPNH + H^+ ------> Milchsäure + DPN^+

Die während der Reaktion verbrauchte DPNH-Menge ist äquivalent der Glyzerinmenge. DPNH ist Meßgrösse und auf Grund seiner Absorption bei 340 bzw. 366 mμ photometrisch zu bestimmen.

Durchführung: In einer 1 cm Küvette werden nacheinander

2,3 ml Puffer-Lösung (1)

0,2 ml DPNH/ATP/PEP-Lösung (2)

$0,_05$ ml Puffer und

0,03 ml LDH/PK-Suspension (3) pipettiert.

Der Inhalt der Küvette wird durch Umschwenken gut gemischt, die Küvette in das Eppendorf-Gerät gestellt. Man wartet den Stillstand der Reaktion ab und liest danach die Extinktion (E_1^a) bei 340 mμ oder 366 mμ ab. 0,2 ml GK-Suspension (4) im Verhältnis 1:1 mit Wasser verdünnt, wird eingemischt. Nach Ablauf von 5 Minuten wird dann die Extinktion (E_2) abgelesen.

Berechnung: Die Berechnung der Glyzerinmenge erfolgt nach der Gleichung:

Bei 340 mμ: $\frac{E\ \text{Glyzerin} \times 3,05}{6,22}$ μ Mol Glyzerin/Testansatz.

Bei 366 mμ: $\frac{E\ \text{Glyzerin} \times 3,05}{3,33}$ μ Mol Glyzerin/Testansatz.

Lösungen und Reagenzien:

1) Puffer-Lösung: Sie muß einen pH-Wert von 7,5 haben. Dies wird erreicht durch eine Mischung von 5,6 g Triäthanolaminhydrochlorid, 0,64g Natriumkarbonat (wasserfrei) und 10 g

Magnesiumsulfat x 7 H_2O, welche in 100 ml Wasser gelöst werden.

2) DPNH/ATP/PEP-Lösungen:

20 mg DPNH, 40 mg ATP und 40 mg PEP werden in 8 ml 5%iger Natriumbikarbonat-Lösung gemischt.

3) Lactatdehydrogenase/Pyruvatkinase:

Je 2 mg Enzymprotein als Kristallsuspension werden zusammen gemischt. Mischungsverhältnis PK (10mg/ml) : LDH = 20 : 7.

4) Glyzerokinase:

2 mg Enzymprotein als Kristallsuspension werden unter Verschluß gehalten.

Anmerkung: Glyzerokinase kann etwas Glyzerin enthalten. Es empfiehlt sich daher, bei jedem Glyzerokinase-Präparat einmal den Glyzeringehalt dadurch zu ermitteln, daß man die Bestimmung wie beschrieben, jedoch mit Wasser statt mit Inkubations-Medium, ausführt. Das Glyzerin ist um den so ermittelten Wert zu korrigieren.

Die Fehlerbreite bei den Vorversuchen lag bei 1,2 Sigma%. 92% einer bekannten Glyzerinmenge, die zur Kontrolle der Methode bzw. deren Genauigkeit eingesetzt wurde, konnte in sog. Recovery-Versuchen ermittelt werden.

Bestimmung der wahren Glukose mittels Biochemica-Testkombination der Fa. BOEHRINGER durchgefuhrt (73)

Prinzip: Glukoseoxydase katalysiert die Oxydation von D-Glukose zu Glukonsäure bei Anwesenheit von Wasser. Dabei entsteht H_2O_2, das durch Peroxydase den Wasserstoffdonator o-Dianisidin oxydiert, der dabei in den rotbraunen Farbstoff "D" übergeht. Die Gesamt-Gleichung heißt

$$\text{Glukose} + O_2 + DH_2 \longrightarrow \text{Glukonsäure} + H_2O + D$$

Die Menge des entstandenen braunen Farbstoffes ist ein Maß für den umgesetzten Glukose-Wert.

Durchführung: 0,1 ml Serum werden mit 1 ml einer 3,3 molaren Perchlorsäure versetzt, gut gemischt und bei 3000 U./Min. zentrifugiert. Von dem Überstand werden 0,2 ml entnommen und eingesetzt. Bei der Herstellung des Leerwertes werden anstelle von Überstand 0,2 ml aqua dest., zur Herstellung eines Standards 0,2 ml einer

Glukose-Standard-Lösung verwandt.
Dazu gibt man 5 ml Glukose-Reagenz (100 Teile Puffer-Enzym-Gemisch und 1 Teil Chromogen-Lösung). Nach genau 35 Min. mißt man am Eppendorf-Apparat bei einem Filter von 546 mμ gegen einen Leerwert die Extinktion der jetzt rotbraunen Lösung in 10 mm-Küvetten ab.

Lösungen und Reagenzien: Der Biochemica-Test-Kombination der BOEHRINGER-Werke sind zu entnehmen:

1) Natriumdihydrogenphosphat
2) Dinatriumhydrogenphophat
3) Glukoseoxydase
4) Peroxydase
5) o-Dianisidinhydrochlorid
6) Glukose-Standard-Lösung

1 + 2 + 3 + 4 + H_2O = Puffer-Enzym-Gemisch + H_2O = Chromogen.
Dazu kommt 3,3 molare Perchlorsäure.

Berechnung: $\frac{\text{Extinktion Probe}}{\text{Extinktion Standard}}$ = mg% Glukose.

Die Fehlerbreite bei den Vorversuchen lag bei 4,4 Sigma%. Von bekannten, eingesetzten Glukose-Mengen wurden bei sog. Recovery-Versuchen 90% ± 4,8 wiedergefunden.

Bestimmung der Brenztraubensäure nach HESS, mittels Biochemica-Test-Kombination der Fa. BOEHRINGER durchgeführt (74)

Prinzip: Das Wesen der Methode besteht in der Umwandlung von DPNH zu DPN^+ unter Einfluß von LDH in Anwesenheit von Brenztraubensäure, die den Wasserstoff aufnimmt.

Durchführung: Der Puffer wird wie bei der Milchsäurebestimmung (s.u.) enteiweißt und neutralisiert. In eine 2 ml-Schmalküvette gibt man in der angegebenen Reihenfolge 0,78 ml Puffer, 1ml Überstand und 0,01 ml DPNH. Nach Stillstand der Reaktion wird die Extinktion mit einem Filter von 366 mμ am Eppendorf-Apparat gemessen. Sodann wird die Reaktion mit 0,01 ml LDH gestartet. Am Ende der Reaktion wird die Extinktion gemessen. Die Änderung der Extinktion dient der Bestimmung des Pyruvatgehaltes des Puffers.

Lösungen und Reagenzien: Trampuffer wird folgendermaßen hergestellt:

0,4 ml Triäthanolamin werden in 5 n HCl auf einen pH-Wert von 7,6 eingestellt. 0,05 n DPNH wird hergestellt. LDH als Kristallsuspension wird hergestellt und 1:5 verdünnt. 1) Triäthanolamin. 2) DPNH. 3) Lactatdehydrogenase (LDH).

Bestimmung der Milchsäure nach BUCHNER mittels Biochemica-Test-Kombination der Fa. BOEHRINGER durchgeführt

Prinzip: Gemessen wird die Extinktionsänderung am Eppendorf-Apparat, die sich infolge der Umwandlung von DPN^+ in DPNH unter dem Einfluß der LDH ergibt und die nur bei Anwesenheit von Milchsäure vor sich geht. Angeregt wurde diese Methode von Otto WARBURG.

Durchführung: Enteiweißung: In ein Zentrifugenglas werden nacheinander 3ml 6%ige Perchlorsäure und 1ml Untersuchungsflüssigkeit pipettiert und mit einem Glasstab gut durchmischt. Es wird sodann 5-10 Min. mit 3000 U/Min. zentrifugiert. Der Überstand wird in ein graduiertes Röhrchen gegossen und mit 2n KOH auf ein pH von 7 gebracht und zentrifugiert. Dann liest man den Röhrchenstand ab.
Für jede Meßreihe ist ein Reagentienleerwert anzusetzen.
In einer 1mm-Schmalküvette werden 0,65 ml Puffer, 0,1 ml Überstand und 0,01 ml DPN^+ exakt pipettiert. Hierauf wird die Extinktion bei einem Filter von 366 mμ am Eppendorf-Gerät gemessen, dann die Reaktion mit 0,01 ml LDH gestartet und nach Beendigung erneut die Extinktion gemessen.
Die Änderung der Extinktion dient der Bestimmung des Milchsäuregehaltes des Puffers.

Bei Vorversuchen lag die Fehlerbreite der Methode bei 7,6 Sigma%. Von einer bekannten, eingesetzten Milchsäuremenge wurde bei sog. Recovery-Versuchen 80% $\pm$ 5 wiedergefunden.

ERGEBNISSE

Wegen der geringen zur Verfügung stehenden LMF-Menge konnten die Untersuchungen nur in begrenztem Umfange durchgeführt werden. Innerhalb eines Versuchsansatzes wurde ein bestimmter LMF-Bereich getestet. Die Einzelergebnisse jeder Versuchsreihe sind in den Tabellen 1-5 nur auszugsweise wiedergegeben. Die ausführliche Darstellung sämtlicher Versuchsergebnisse findet sich im Anhang dieser Arbeit.

In den Tabellen 1-5 sind die nach Inkubation im Puffermedium ermittelten Substratkonzentrationen als Abweichung vom Ausgangswert wiedergegeben. Aus den Konzentrationsänderungen der Metaboliten im Puffer bei steigender LMF-Dosis läßt sich die lipolytische Wirkung auf das Fettgewebe ablesen.

Es erschien nicht sinnvoll, Mittelwerte und Signifikanzen zu berechnen, da sich von Versuchsreihe zu Versuchsreihe beträchtliche Unterschiede der einzelnen Metabolit-Konzentrationen zeigten.

NFS und Glyzerin

LMF-Konzentrationen ab 1 Gamma/ml Puffer lassen am Fettgewebe einen deutlichen lipolytischen Effekt erkennen (Tab.1 u.2). Bei dieser Dosis ist ein Ansteigen der NFS- und Glyzerinwerte im Inkubations-Medium zu beobachten. Schrittweise Steigerung der LMF-Konzentration führt zu einer kontinuierlichen Zunahme der NFS- und Glyzerinmenge im Puffermedium. Die maximale Stimulation der Lipolyse wird mit etwa 10 Gamma/ml Puffer erreicht. Eine weitere Steigerung der Dosis bis zu 1600 Gamma/ml Puffer führt zu keiner weiteren Zunahme der NFS- und Glyzerin-Konzentrationen im Puffer (Tab. 1 u. 2).
Die freigesetzten NFS-Mengen sind etwa doppelt so groß wie die freigesetzten Glyzerin-Mengen.

Tab.1

LMF/ml Puffer.	µVal NFS/l Puffer		
0,01	-71		
0,1	-00		
0,2			
0,3			
0,4			
0,5			
0,6			
0,7			
0,8			
0,9			
1,0	200	165	402
2			587
3			754
4			984
5			757
6			952
7			962
8			1104
9			1104
10	615	775	1147
15			
20			
30			
40			
50	965		
60			
70			
80			
90			
100	1096	1105	
120			
150	1212		
160			
200	1079		
300	1000		
400			
600	1010		
800			
900	865		
1000			
1200	937		
1500	997		
1600			
2000	1000		
3000	1107		
4000	1086		
5000	1047		

EINFLUß VON LMF AUF DIE FREISETZUNG VON NFS AUS DEM FETTGEWEBE

links: steigende LMF-Konzentrationen in Gamma/ml Puffer

rechts: Anstieg der NFS-Konzentration über den Ausgangswert

LMF/ml Puffer	µMol Glyzerin/l		
0,01	-29		
0,1	-27	42	
0,2			
0,3			
0,4			
0,5			
0,6			
0,7			
0,8			
0,9			
1	-28	165	254
2			281
3			369
4			479
5			591
6			614
7			611
8			566
9			574
10	35	775	581
15			
20			
30	590		
40			
50			
60	460		
80			
90	412		
100		1105	
120	362		
150	422		
160			
200	409		
300			
400	492		
600			
800	244		
900			
1200	429		
1600	444		

Tab. 2

EINFLUß VON LMF AUF DIE FREISETZUNG VON GLYZERIN AUS DEM FETTGEWEBE

links: steigende LMF-Konzentration in Gamma/ml Puffer

rechts: Glyzerin-Konzentration als Abweichung vom Ausgangswert

Glukose, Laktat und Pyruvat

Glukose-, Laktat- und Pyruvat-Konzentrationen im Puffermedium ändern sich im LMF-Konzentrations-Bereich von 0,01 bis 10 Gamma/ml Puffer nicht. Bei weiterer Erhöhung von LMF kommt es zu einem kontinuierlichen Absinken der Glukose unter gleichzeitigem Anstieg von Laktat und Pyruvat im Puffermedium.

LMF/ml Puffer	mg/ Glukose/l	
0,01	208	
0,1	208	
0,2		
0,3		
0,4		
0,5		
0,6		
0,7		
0,8		
0,9		
1,0	210	250
2		250
3		248
4		243
5		236
6		243
7		240
8		235
9		234
10	193	239
15		
20		
30		
50	233	
80		
100	206	
120		
150	195	
160		
200	177	
290		
400	167	
600		
800	155	
900		
1200	151	
1500		
1600	141	

Tab. 3

EINFLUß VON LMF AUF DIE GLUKOSEAUFNAHME DES FETTGEWEBES

Verbleibende Glukosemenge im Puffer nach 3-stündiger Inkubation.

links: steigende LMF-Konzentrationen in Gamma/ml Puffer

rechts: Glukosespiegel des Puffers.

Tab. 4

EINFLUß VON LMF AUF DIE FREISETZUNG VON LAKTAT AUS DEM FETTGEWEBE

links: steigende LMF-Konzentrationen in Gamma/ml Puffer

rechts: Laktat-Konzentration als Abweichung vom Ausgangswert

LMF/ml Puffer	µMol Laktat/l
30	1356
50	1845
60	
90	3065
100	3575
120	3850
150	
180	4887
200	4945
300	4725
600	5775
900	6380
1200	6770
1600	7235

LMF/ml Puffer	µMol Pyruvat/l
1	-3
3	+12
5	-8
7	-2
9	+18
30	231
50	837
60	804
90	981
100	1086
120	1086
150	
180	1780
200	2067
300	1450
600	1487
900	1344
1200	1382
1600	1727

Tab. 5

EINFLUß VON LMF AUF DIE FREISETZUNG VON PYRUVAT AUS DEM FETTGEWEBE

links: steigende LMF-Konzentration in Gamma/ml Puffer

rechts: Pyruvatkonzentration als Abweichung vom Ausgangs - wert

Bei einer Dosis von etwa 100 Gamma/ml Puffer wird die maximale Pyruvat-Konzentration erreicht. Weitere Steigerung der LMF-Dosis bis zu 1600 Gamma bringt keine weitere Zunahme des Pyruvat-Spiegels im Puffer mehr. Gleichzeitig nimmt bei Steigerung der LMF-Dosis über 100 Gamma/ml Puffer die Glukose-Konzentration des Puffers weiter ab. Ebenso scheint die Laktat-Konzentration mit zunehmender LMF-Dosis weiter anzusteigen (Tab. 3,4 u. 5).

Das Absinken der Glukose im Puffer unter LMF-Einfluß war nur bei Anwesenheit lebender Fettgewebszellen erkennbar. LMF ist auch in sehr hohen Konzentrationen (5mg) reiner Glukose (ohne Fettgewebe im Medium) gegenüber ohne Wirkung geblieben. Das Absinken der Glukose im Puffer unter bestimmten LMF-Konzentrationen kann aus diesem Grunde nur die Folge einer Glukose-Aufnahme in das Fettgewebe sein. Diese Aufnahme durch das Fettgewebe erfolgt zwar auch ohne LMF-Einfluß, steigt jedoch unter LMF-Einfluß in Abhängigkeit von der Fettmenge an (Abb. 2)

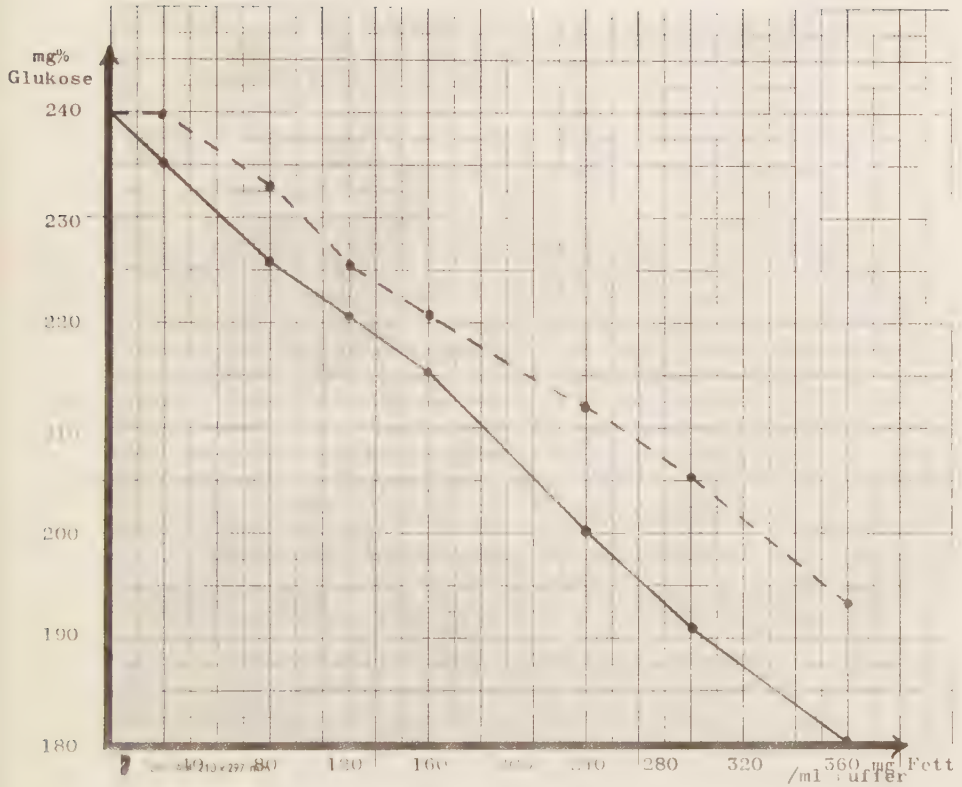


Abb. 2

EINFLUß STEIGENDER FETTGEWEBSMENGEN
AUF DIE GLUKOSEAUFNAHME DES FETT -
GEWEBES

Der LMF-Spiegel wird konstant gehalten, das Fettgewebe wird im Versuch von 0 bis 360 mg/ml Puffer gesteigert

●— — — —● 0 Gamma LMF/ml Puffer

●————————● 200 Gamma LMF/ml Puffer

LMF/ml Puffer	µVal VFS/l.		
0,1	+0,2		
2	-0,2		
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10	+1.0		
10		-0,7	
80		-0,5	
100	0,0		
120		-0,[illegible]	
160		-0,[illegible]	
100	+1,5		
800	+0,2		
1200	+1,7		
1600	-2,2		

Tab. 6

EINFLUß VON LMF AUF DIE VERESTERTEN FETTSÄUREN DES PUFFERS

links: steigende LMF-konzentration in Gamma/ml Puffer

rechts: Konzentration der VFS als Abweichung vom Ausgangswert

Veresterte Fettsäuren (VFS)

Bei allen Versuchen änderte sich die Konzentration veresterter Fettsäuren im Puffermedium nicht. Die Freisetzung von Glyzerin und NFS unter LMF-Einfluß kann also nur Folge einer Hydrolyse der im Fettgewebe gespeicherten Triglyzeride sein, nicht aber auf einer Hydrolyse der im Puffer vorhandenen VFS beruhen (Tab. 6).

Inaktivierung

Um Dosis-Wirkungs-Verhältnisse zu überprüfen, wurden steigende Fettmengen unter jeweils gleicher LMF-Konzentration inkubiert (Abb. 3). Die Fettmengen wurden dabei von 0 bis 360 mg/ml Puffer stufenweise gesteigert. Die LMF-Konzentrationen wurden mit 10 bzw. 200 Gamma/ml Puffer konstant gehalten.

Unter diesen Konzentrationen zeigte sich bei zunehmender Fettmenge bis zu 80 mg eine zunehmende NFS-Release ins Medium. Bei weiterer Erhöhung der Fettmengen ging die NFS-Release zurück, kenntlich an einer relativen Abnahme der NFS-Konzentration im Puffermedium. Bei niedrigen LMF-Konzentrationen

(10 Gamma) nahm der NFS-Release rascher, bei höheren Konzentrationen (200 Gamma) deutlich langsamer ab. So lag die NFS-Konzentration des Puffers bei der größten untersuchten Fettmenge von 360 mg/ml Puffer nach Inkubation mit 200 Gamma LMF nach Versuchsende immer noch wesentlich höher als nach Inkubation mit nur 10 Gamma (Abb. 3).

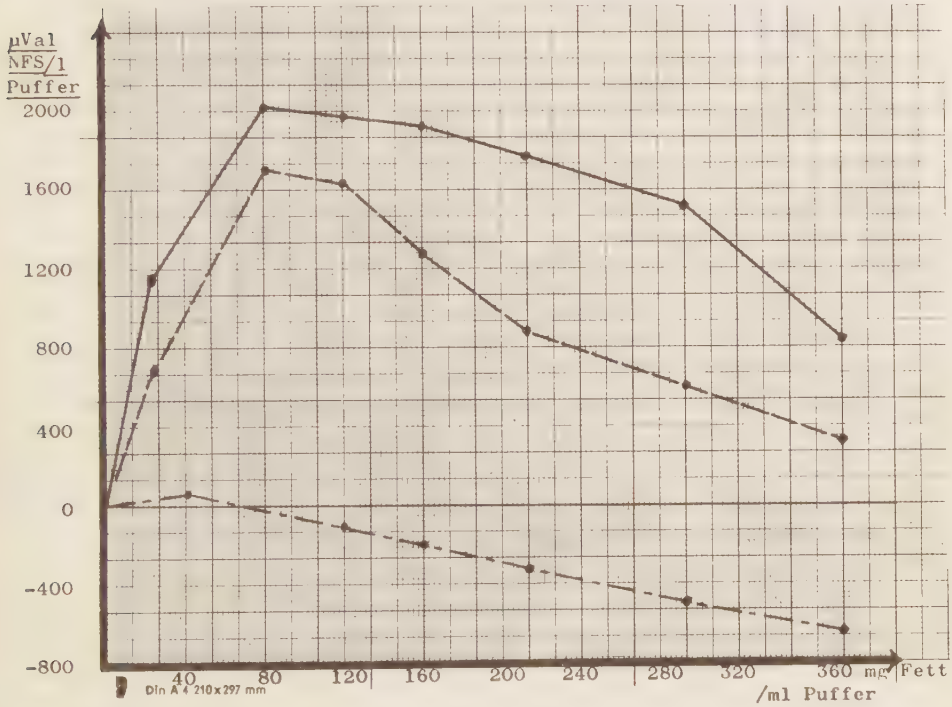


Abb. 3 DAS VERHALTEN DER NFS-SPIEGEL UNTER 0,10 UND 200 GAMMA LMF/ml PUFFER BEI STEIGENDEM FETTGEHALT DES PUFFERS

200 Gamma LMF/ml Puffer

10 Gamma LMF/ml Puffer

0 Gamma LMF/ml Puffer

Aus diesem Grunde bemühten wir uns, alle Versuche mit annähernd gleich-großen Fettmengen durchzuführen. Das Durchschnittsgewicht des Fettgewebes pro Versuchsansatz betrug 278 $\pm$ 12 mg.

Wie der Leerversuch der Abb. 3 zeigt, werden nichtveresterte Fettsäuren auch bei Abwesenheit von LMF durch das Fettgewebe, in Abhängigkeit von der Fettmenge, aufgenommen. Dieser NFS-Schwund im Puffermedium beeinflußt jedoch die Gesamt-Konzentration der NFS unter Einfluß von 10 oder 200 Gamma LMF nur unwesentlich (Abb. 3).

Wirkungseintritt

Orientierende Versuche mit 5 Gamma LMF und gleichbleibender Fettmenge zeigen, daß die größte NFS-Menge innerhalb der ersten 5 Minuten zu Beginn der Inkubation freigesetzt wird.
Bereits nach dieser Zeit liegt der NFS-Spiegel fast 100% über dem Ausgangswert (Abb. 4).
Auch bei diesen Versuchen erfolgt mit zunehmender Versuchsdauer eine NFS-Aufnahme in das Fettgewebe, durch die während der Inkubation der NFS-Spiegel des Puffers laufend absinkt. Nach 3 Stunden liegt er etwas unter dem Ausgangswert.

Vergleichende Versuche ohne LMF zeigten auch hier die laufende NFS-Aufnahme in das Fettgewebe an. Der Spiegel der freien Fettsäuren sinkt während der Inkubation ständig ab und beträgt nach 3 Stunden nur noch etwa 1/3 des Ausgangswertes.
Nach 3-stündiger Inkubation liegt der NFS-Spiegel des Puffers unter LMF-Einfluß jedoch noch 100% über dem Kontroll-Wert ohne LMF (Abb. 4).

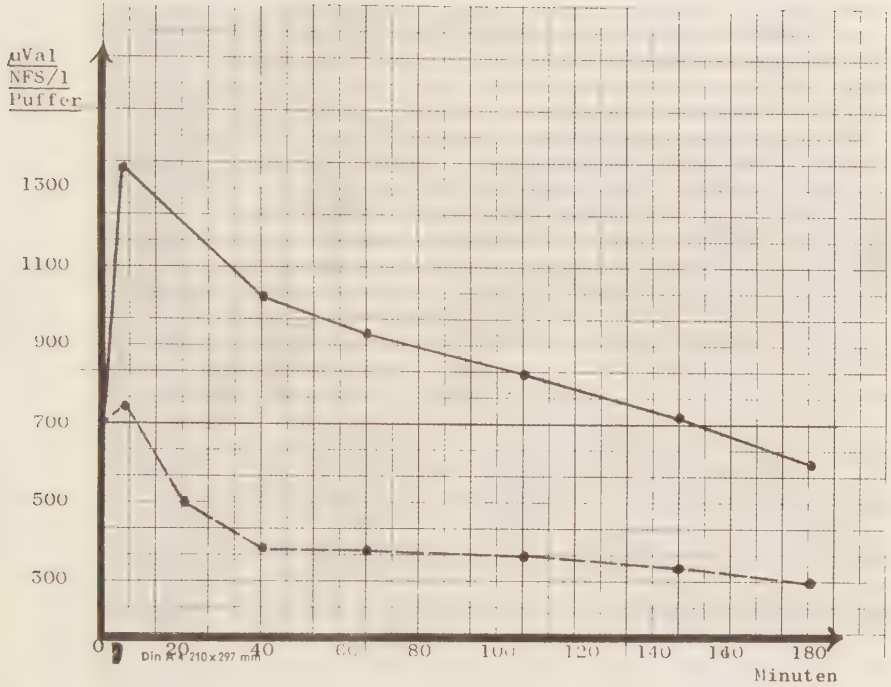


Abb. 4 NFS-KONZENTRATION WÄHREND DER INKUBATION

Die LMF-Konzentration wird mit 5 Gamma, die Fettmenge mit 10 mg konstant gehalten. Nach jeweils 10. Min werden dem Erlenmeyerkolben 2 ml Puffer entnommen und auf den NFS-Gehalt untersucht. (Die Werte sind auf die jeweils zurückbleibende Puffermenge umgerechnet worden).

——●—— 5 Gamma LMF/ml Puffer

——●——●—— 0 Gamma LMF/ml Puffer

Die Wirkung von LMF ist an die lebende Fettzelle mit ihrem Enzymsystem gebunden. LMF ist auch in höheren Konzentrationen reinem Triolein gegenüber wirkungslos. Wird dem Puffer anstelle von Fettgewebe Triolein zugesetzt, so beobachtet man unabhängig

von der LMF-Konzentration mit steigenden Triolein-Mengen im Verlaufe der 3-stündigen Inkubation eine Zunahme der NFS, wie Abb. 5 zeigt.

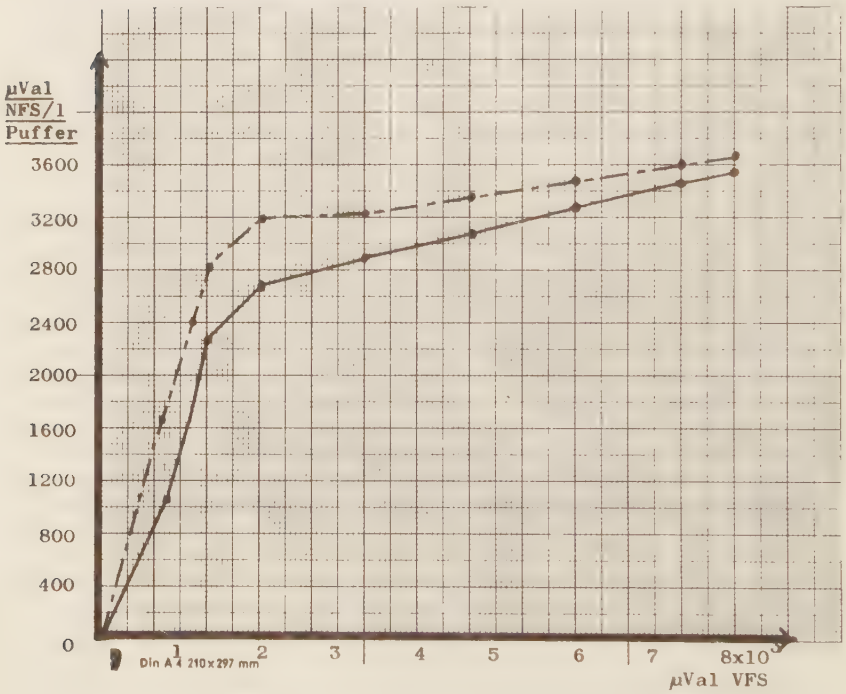


Abb. 5

INKUBATION EINER TRIOLEIN-EMULSION

Untersucht wird das Verhalten des NFS-Spiegels unter Einwirkung von 0 und 10 Gamma LMF/ml Puffer bei steigendem Trioleingehalt des Puffermediums.
Die Hydrolyse von veresterten Fettsäuren zu NFS wird durch LMF nicht beeinflußt.

0 Gamma LMF/ml Puffer

10 Gamma LMF/ml Puffer

DISKUSSION

In-vitro zeigt isoliert inkubiertes Fettgewebe grundsätzlich das gleiche Stoffwechselverhalten wie im lebenden Organismus. Untersuchungen am isolierten Fettgewebe haben den Vorteil, nicht durch Regulationsvorgänge, die vom Gesamtorganismus ausgehen, beeinflußt zu werden. Beobachtete Stoffwechseländerungen des Fettgewebes können daher als direkte Folge der zu untersuchenden und dem Puffermedium zugesetzten Substanzen bezeichnet werden. Jedoch sind die am isolierten Gewebe beobachteten Effekte häufig schwächer ausgeprägt als im Gesamtorganismus oder nur mit unphysiologisch hohen Dosen zu erzielen.
Denn das isolierte, nicht mehr durchblutete Gewebe steht nur mit der verhältnismäßig kleinen äusseren Oberfläche mit dem umgebenden Puffermedium in Berührung, sodaß ein Stoffaustausch nicht wie beim lebenden Organismus vom gesamten Kapillargebiet her erfolgt, sondern auf Diffusion an der äußeren Oberfläche beschränkt ist. Die Mannigfaltigkeit in der Ausbildung des Fettanhanges der Ratte und somit das wechselnde Ausmaß der Oberfläche des präparierten Fettgewebes ist sicher mit für die Schwankungen bei den Ergebnissen der hier vorliegenden Einzelbestimmungen verantwortlich.

Da eine genaue Festlegung der Oberfläche einzelner Fettgewebszipfel nicht möglich ist, werden allgemein beobachtete Stoffwechsel-Effekte auf das Gewicht des Fettgewebes bezogen, das mit der Oberfläche in einem einigermaßen konstanten Verhältnis steht. Da bei den hier geschilderten Versuchen die Fettgewebsmenge pro Versuchsansatz mit 278 $\pm$ 12 mg nur unwesentlich differierte, konnte auf eine Umrechnung der Einzelergebnisse auf 1 mg Fettgewebe verzichtet werden, zumal bei den vorliegenden Untersuchungen nicht so sehr absolute Zahlen, sondern Änderungen des Verhaltens im Stoffwechsel des Fettgewebes interessieren.
RUDMAN und Mitarb. (50,52) konnten zeigen, daß die verschiedenen Hypophysenhormone sowie die von ihnen gefundene Fraktion H vom Fettgewebe verschiedener Tierspiezies unterschiedlich schnell inaktiviert wird. Die lipolytische Wirksamkeit war direkt proportional der

Inaktivierungsgeschwindigkeit. So ließ sich die starke fettmobilisierende Wirkung seiner Fraktion H beim Kaninchen durch eine praktisch fehlende Inaktivierung durch das Fettgewebe dieser Tierart erklären. Der fehlenden lipolytischen Wirkung von Fraktion H am Rattenfettgewebe stand die rasche Inaktivierung dieser Substanz durch Rattenfettgewebshomogenate gegenüber.

Interessant war das Verhalten unter ACTH in RUDMAN's Versuchen (52,53). Dieses Hormon zeigte am isolierten Rattenfettgewebe zunächst deutliche lipolytische Effekte, wurde dann aber durch Rattenfettgewebshomogenate ebenfalls inaktiviert. Offensichtlich ist die Inaktivierungsgeschwindigkeit jedoch niedriger als die "Lipolysierungszeit", sodaß sich über einen begrenzten Zeitraum lipolytische Effekte mit ACTH am Rattenfettgewebe erzielen lassen.

In den hier geschilderten Untersuchungen konnten mit LMF, einem aus menschlichen Hypophysen gewonnenen Polypeptid, auch am Rattenfettgewebe lipolytische Wirkungen erzielt werden. Ab einer LMF-Dosis von 1 Gamma /ml Puffer begannen NFS- und Glyzerin-Spiegel im Puffermedium anzusteigen. Diese LMF-Menge kann daher als minimal wirksame Schwellendosis bezeichnet werden. LMF-Konzentrationen von 1-10 Gamma/ml Puffermedium führten zu einer steigenden Lipolyse-Rate mit zunehmender Glyzerin- und NFS-Konzentration im Puffermedium. Höhere Konzentrationen bewirkten keine weitere Steigerung der Lipolyse mehr. Eine weitere NFS- und Glyzerinzunahme im Puffermedium war nicht mehr festzustellen, so daß im Vergleich zur Schwellendosis bei 1 Gamma/ml von einer maximalen Wirkdosis bei 10 Gamma/ml gesprochen werden kann.

Systematische Untersuchungen am isolierten Fettgewebe über den Glukosestoffwechsel unter Einfluß fettstoffwechselaktiver Hypophysenhormone wurden von VERNER (77), HOLLENBERG (34), BUCKLE (78) und VAUGHAM (30) durchgeführt. ACTH zeigte dabei neben einer lipolytischen Wirkung eine Steigerung der Glukose-Aufnahme des

Fettgewebes. Mit diesem Ergebnis decken sich die bei unseren Versuchen gewonnenen Erfahrungen. Auch LMF steigerte die Glukose-Aufnahme proportional zur Inkubationsdauer und LMF-Konzentration. Wie bei ACTH (VAUGHAM, 30) hält auch bei LMF die NFS-Freisetzung noch bei Konzentrationen an, die keinen Effekt mehr auf die Glukose-Aufnahme zeigen. So war bei LMF-Dosen zwischen 1 und 10 Gamma/ml Puffer, die eine proportionale Zunahme der NFS- und Glyzerin-Konzentrationen im Puffer bewirkten, keine Glukose-aufnahme zu beobachten. Erst ab 10 Gamma/ml war eine deutliche Abnahme der Glukose-Konzentration im Puffermedium festzustellen.

In vivo fanden RUDMAN und Mitarb. (52) nach Gabe ihrer Fraktion H beim Kaninchen keine Änderung des Blutzuckers, ebenso keine Zunahme von Ketokörpern im Blut. Dagegen konnten TRYGSTADT und Mitarb. (41) mit ihrer LMP genannten Substanz beim Kaninchen in vivo einen Anstieg des Blutzuckers und der Ketokörper beobachten. Bei unseren Untersuchungen kam es parallel zur Glukoseaufnahme durch das Fettgewebe zu einem Anstieg des Pyruvat- und Laktat-Gehaltes des Puffers.

Hinsichtlich des Wirkungsmechanismus ist zwischen LMF und ACTH sowie TSH kein Unterschied festzustellen. Wie ein Vergleich mit RUDMAN's Untersuchungen zeigt, liegt die wirksame Schwellen-dosis bei ACTH und TSH mit 0,1 Gamma/ml wesentlich niedriger als bei LMF mit 1 Gamma/ml. Es erhebt sich somit die Frage, ob der unter LMF beobachtete Effekt möglicherweise auf einer Kontamination mit anderen Hypophysenhormonen beruht und als unspezifisch zu bezeichnen ist. Dieser Verdacht kann jedoch entkräftet werden. Zwar finden sich im LMF noch Spuren anderer Hypophysen-Hormone als Verunreinigung (SIM und Mitarb.), doch ist die Konzentration von beispielsweise 35 mE ACTH/mg LMF zu gering, um eine lipolytische Wirkung ausüben zu können. Sie liegt fast 3 Potenzen niedriger als die Schwellendosis von ACTH, die am Rattenfettgewebe noch lipolytisch wirksam ist. Ähnlich verhält es sich mit Verunreinigungen durch Vasopressin und Intermedin.

LMF hat einen lipolytischen Soforteffekt mit einer maximalen NFS-Freisetzung bereits nach fünf Minuten. Es wäre deshalb

ausreichend gewesen, jeweils 5 Minuten nach Beginn der Inkubation den NFS-Spiegel des Puffers zu bestimmen. Dieser Sofort-Effekt wurde jedoch erst gegen Ende der Versuchsserie entdeckt, sodaß für weitere Versuche kein LMF mehr zur Verfügung stand. Da jedoch der NFS-Gehalt des Puffers auch nach 3-stündiger Inkubation mit LMF noch 100% über dem entsprechenden Leerwert liegt, spielt die Inkubationsdauer bei den hier vorliegenden vergleichenden Untersuchungen keine Rolle.

LMF wird, wie die Versuche mit unterschiedlichen LMF-Dosen zeigten ('Abb. 3) , rasch vom Fettgewebe inaktiviert. Bei gleichbleibender Menge Inkubationsmedium und konstanter Menge LMF nahm die im Puffer gemessene NFS-Konzentration bei steigender Fettgewebsmenge erst zu, später wieder ab. Bei einer LMF-Dosis von 200 Gamma/ml Puffer war bei steigender Fettgewebsmenge ein Rückgang der NFS-Konzentration ebenfalls zu verzeichnen, erfolgte aber wesentlich langsamer als bei einer niedrigeren Dosis von 10 Gamma. Wie aus Abb. 3 zu ersehen ist, konnte bei zunehmender Fettmenge eine gesteigerte NFS-Freisetzung als Ausdruck des ansteigenden "Substratangebotes" beobachtet werden. Bei Überschreiten einer bestimmten Fettmenge sanken dagegen die NFS-Konzentrationen im Puffermedium infolge der gesteigerten Inaktivierung des LMF durch die größeren Fettmengen wieder ab. Bei 10 Gamma/ml fällt die NFS-Konzentration bei steigender Fettmenge rascher ab als bei 200 Gamma, da bei der geringeren Dosis weniger Substrat inaktiviert werden muß.

Vergleicht man die Wirksamkeit von LMF mit den von anderen Autoren untersuchten fettstoffwechselaktiven Substanzen, so ergibt sich, daß RUDMAN's Fraktion H am Rattenfettgewebe selbst bei einer Konzentration von 50 Gamma/ml Puffer unwirksam ist. FRIESEN's(55-57) ebenfalls aus Schweinehypophysen isoliertes Peptid I und Peptid II ist ebenfalls am Rattenfettgewebe auch in höchsten Konzentrationen unwirksam. Eine minimal wirksame Schwellendosis wurde auch in mg-Bereichen nicht ermittelt. LI's Lipotropin aus Schafshypophysen dagegen erwies sich auch am isolierten Rattenfettgewebe als lipolytisch wirksam (63). Die Schwellendosis wurde mit 0,93 Gamma/ml Puffer angegeben,

lag also etwa in dem Bereich, in dem auch LMF lipolytische Wirkungen zu zeigen beginnt.

Die von TRYGSTADT und Mitarb. (41) aus menschlichen Hypophysen gewonnene lipoidmobilisierende Substanz LMP zeigte am isolierten Omentumfett der Maus mit 10 Gamma/ml größere lipolytische Effekte als die gleiche Adrenalin-Konzentration. Mit Pepsin angedautes menschliches STH wirkte in-vivo und in-vitro am isolierten Fettgewebe der Ratte stärker lipolytisch als das native, unveränderte Hormon.

BORNSTEIN und Mitarb. (29) wiesen darauf hin, daß zur Erzielung eines lipolytischen Effektes kein intaktes ACTH- oder STH-Molekül notwendig sei. Auch Molekülbruchstücke dieser Hormone sind lipolytisch aktiv. LI und Mitarb. (61) zeigten, daß mit Verdauungsfermenten behandeltes STH lipolytisch wirksam ist, und LARON und Mitarb. (40) wiesen nach, daß diese Wirksamkeit sogar mit der Andauung wächst. Möglicherweise handelt es sich bei allen bisher gefundenen fettstoffwechselaktiven Polypeptiden um Molekülbruchstücke bekannter Hormone der Hypophyse, die keine trope, bzw. das betreffende Hormon charakterisierende Wirkung mehr haben, wohl aber noch die Lipolyse fördern können. Ob aus der Hypophyse gewonnene fettstoffwechselaktive Faktoren überhaupt als spezifisch für die Hypophyse angesehen werden dürften, erschien zunächst fraglich, nachdem es CHALMERS und Mitarb. (65,66) gelungen war, aus dem Urin hungernder Versuchspersonen ebenfalls lipolytisch wirksame Polypeptide zu gewinnen. Konzentrationen von 1Gamma/ml zeigten am isolierten Rattenfettgewebe noch lipolytische Wirksamkeit. Allerdings waren d rartige Extrakte nur aus dem Urin nicht-hypophysektomierter Personen zu gewinnen. Im Urin hypophysektomierter Patienten konnten keine lipolytisch wirksamen Substanzen mehr gefunden werden, was die Untersucher veranlaßte, die Hypophyse als Bildungsort anzusehen.

Ob daher aus der Hypophyse isolierte fettstoffwechselaktive Substanzen als eigenständige Hormone anzusprechen sind oder nur Molekülbruchstücke von bekannten Hormonen darstellen, die noch lipolytische Aktivität besitzen, erscheint bisher nicht geklärt. Ebensowenig kann bisher die Frage beantwortet werden,

ob diese fettstoffwechselaktiven Substanzen in Regulation und Pathophysiologie des Fettstoffwechsels eine Rolle spielen.

ZUSAMMENFASSUNG

Ein aus der menschlichen Hypophyse gewonnenes Polypeptid (Lipoid-Mobilizing-Factor LMF) wurde hinsichtlich seiner Wirksamkeit auf den Fett- und Glukosestoffwechsel des isolierten Rattenfettgewebes untersucht und in die ausführlich dargestellte Literatur einzugliedern versucht.

LMF unterscheidet sich von den bisher bekannten tropen Hormonen der Hypophyse. Es zeigt am Rattenfettgewebe einen lipolytischen Soforteffekt nach 5 Minuten, wobei NFS- und Glyzerinfreisetzung bereits bei 1 Gamma/ml Puffer erfolgen. Das Maximum dieser Wirkung wird bei 10 Gamma/ml Puffer erreicht.

Unter LMF-Einfluß erfolgt eine gesteigerte Glukoseaufnahme in das Fettgewebe. Proportional dazu nimmt der Gehalt an Pyruvat und Laktat im Puffer zu.

Die veresterten Fettsäuren (VFS) des Puffers bleiben durch LMF unbeeinflußt. LMF ist in seiner lipolytischen Wirkung an das Enzymsystem der lebenden Zelle gebunden.

LMF wird wie die anderen fettstoffwechselaktiven Hormone durch das Fettgewebe inaktiviert. Es zeigt große Ähnlichkeit mit dem von LI und Mitarb. isolierten Lipotropin und einer von CHALMERS und Mitarb. aus dem Urin hungernder Versuchspersonen gewonnenen fettstoffwechselaktiven Substanz.

Ob LMF in der Regulation des Fettstoffwechsels beim Menschen eine Rolle spielt, bleibt zunächst noch unklar.

LITERATURVERZEICHNIS

1) SCHOENHEIMER R., and RITTENBERG D.
Deuterium as an indicator of intermediary metabolism.
VI. Sythesis and destruction offatty acids in the organism.
J. Biol. Chem. 114, 381 (1936)

2) WERTHEIMER E.
Influence of hormones on adipose tissue as a center of fat metabolism.
Recent Progr. Hormone Res. 16, 467 (1960)

3) BALLARD F.B., DANFORTH W.H.,NAEGLE S., and BING R.J.
Myocardial metabolism of fatty acids.
J. clin. Invest. 39, 717 (1960)

4) KARLSON P.
Lehrbuch der Biochemie für Naturwissenschaftler.
2. Auflage. Georg Thieme-Verlag Stuttgart.
S. 224 (1961)

5) JEANRENAUD B.
Dynamic aspects of adipose tissue. A review.
Metabolism 13, 535 (1961)

6) STEINBERG D., and VAUGHAM M.
Release of free fatty acids from adipose tissue in-vitro in relations to rates for triglyceride synthesis and degradation.
In: RENOLD A.E., and CAHILL jr. G.F.
Handbook of Physiology: Adipose Tissue.
American Physiological Society, Washington, D.2, 355 (1963)

7) CAMPBELL J., MARTUCCI A.D., and GREEN G.R.
Plasma albumin as an acceptor of free fatty acids.
Biochem. J. 93, 183 (1964)

8) FREDRICKSON D.S., GORDON R.S., ONO K., and CHERKES A.
The metabolism of albumin-bound C^{14}-labeled unesterified fatty acids in normal human subjects.
J. clin. Invest. 37, 1504 (1958)

9) WIELAND O.
Wechselbeziehungen zwischen Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel mit ihren Störungen.
8. Colloquium der Gesellschaft für physiologische Chemie, Moosbach, 86, (1957)

10) DOLE V.D., BIERMAN E.L., and ROBERTS TH.N.
Plasma NEFA as an index of carbohydrate utilization.
J. clin. Invest. 37, 136 (1957)

11) FREDRICKSON D.S., and GORDON R.S.
The metabolism of albumin-bound C^{14}-labeled unesterified fatty acids in normal human subjects
J. clin. Invest. 37, 1504 (1958)

12) SCHLESS J.C.
Nonesterified fatty acids as a metabolic substrate.
Metabolism 14, 034 (1962)

13) STEIN O., and STEIN Y.
Metabolism of fatty acids in the isolated perfused rat heart.
Biochem. Biophys. Acta 70, 517 (1963)

14) SPITZER J.J., and GOLD M.
Free fatty acids metabolism by skeletal muscle.
Americ. J. Physiol. 206, 159 (1964)

15) HAVEL R.J., NAIMARK A., and BORCHGREVINK CH. F.
Turnover rate and oxidation of free fatty acids of blood plasma in man during exercise: Studies during continuous infusion of palmitate-1-C^{14}.
J. clin. Invest. 42, 1054 (1963)

16) SHIPP J.C., MATOS O.E., and CREVASSE L.
Effect of temperature on metabolism of glucose-U-C^{14} and palmitate-1-C^{14} in perfused rat heart.
Metabolism 14, 639 (1965)

17) WIELAND O., und SUYTER M.
Glyzerokinase: Isolierung und Eigenschaften des Enzyms.
Biochem. Z. 329, 320 (1957)

18) SCHWARZ K., BOTTERMANN P., CLAUSSEN G., KOPETZ K. und EYMER K.P.
Untersuchungen über die Resorption und die biologische Halbwertzeit von Glyzerin beim Menschen.
Klin. Wschr. 1, 1183 (1962)

19) KAHLENBERG A., and KALANT N.
The effect of insulin on human adipose tissue.
Canadian Journal of Chemistry 42, 1623 (1964)

20) LYNN W.S., LEOD M.R., and BROWN R.H.
Effects of epinephrine, insulin and corticotropin on the metabolism of rat adipose tissue.
J. Biol. Chem. 235, 1904 (1960)

21) CSORBA TH.R., MATSUDA I., and KALANT N.
Effects of insulin and diabetes on flux rates of plasma glucose and ffee fatty acids.
Metabolism 15, 262 (1966)

22) EYMER K.P., SCHWARZ K. und WEINGES K.F.
Das Verhalten der veresterten und nichtveresterten Fettsäuren im Serum unter dem Einfluss von Glukagon und Insulin beim Menschen.
Klin. Wschr. 39, 631 (1961)

23) MAHLER R., STAFFORT W.S., TARRANT M.E., and ASHMORE J.
The effect of insulin on lipolysis.
Diabetes 13, 297 (1964)

24) BOTTERMANN P., SCHWARZ K., SCHULZE-SÖLDE R. und DAMBACHER M.
Untersuchungen über den Fettstoffwechsel bei der Fettsucht.
Diabetologia 1, 180 (1965)

25) SCHWARZ K., KOPETZ K., EYMER K.P. und BOTTERMANN P.
Zur Frage der Fettmobilisation durch Hormone.
Verh. d. Dtsch. Ges. f. inn. Medizin 69, 411 (1963)

26) WEINGES K.F.
Der Einfluss von Glukose und Insulin auf den Stoffwechsel der nichtveresterten Fettsäuren am isolierten Fettgewebe der Ratte in-vitro.
Klin. Wschr. 39, 293 (1961)

27) GOODMAN H.M., and KNOBIL E.
Some endocrine factors in regulation of fatty acids mobilization during fasting.
Americ. J. Physiol. 201, 1 (1961)

28) HAMBURGER J., SMITH R.Q., and MILLER M.
Effects of epinephrine on free fatty acid mobilization in hyperthyriods and hypothyriods.
Metabolism 12, 821 (1963)

29) BORNSTEINER J., and HYDE D.
Polypeptides of the human pituitary with direct action on metabolism.
Nature 187, 125 (1960)

30) VAUGHAM M.
Effect of hormones on glucose metabolism in adipose tissue.
J. Biol. Chem. 236, 2196 (1961)

31) BJÖRNTORP P.
The fatty acid release and lipolysis of human subcutaneous adipose tissue in vitro.
Metabolism 13, 1318 (1964)

32) ASTWOOD E.B.
The pituitary gland and the mobilization of fat.
In: RENOLD A.E., and CAHILL jr. G.F.
Handbook of Physiology: Adipose tissue.
American Physilogical Society, Washington, D.2, 529 (1965)

33) MAUTALEN C., and SMITH R.W.
Lipolytic effects of human growth hormone in resistant obesity.
J. Clin. Endocr. Metab. 25, 495 (1965)

34) HOLLENBERG C.H., RABEN M.H., and ASTWOOD E.B.
The lipolytic response to corticotropin.
Endocrinology 68, 589 (1961)

35) BEST C.H., and CAMPBELL J.
J. PHYSIOL. (London) 86, 190 (1936)
referiert nach:
RUDMAN D., HIRSCH R.L., KENDALL F.E., SEIDMAN F., and BROWN S.J.
An adipokinatic component of the pituitary gland: Purification, physical, chemical, and biologic properties.
Recent Prog. Hormone Res. 18, 89 (1962)

36) ANSELMINO K.J. und HOFFMANN F.
Über das Fettstoffwechsel-Hormon des Hypophysen-Vorderlappens (Lipotropin) und seine Bedeutung für die Fettumsetzung unter physiologischen und pathologischen Bedingungen.
D. Med. Wschr. 90, 1697 (1965)

37) SCHWARZ K., WEINGES K.F., EYMER K.P. und KOPETZ K.
Über die fettmobilisierende Wirkung von menschlichem STH, Adrenalin und ACTH beim Menschen.
8. Symp. Dt. Ges. f. Endokrinologie, 393 (1961)

38) WEINGES K.F., SCHWARZ K., EYMER K.P. und KOPETZ K.
DerEinfluß von STH, ACTH, Adrenalin und Cortisol auf die Produktion von nicht veresterten Fettsäuren und Glyzerin vom Fettgewebe in vitro.
8. Symp. Dt. Ges. f. Endokrinologie, 382 (1961)

39) RABEN M.S.
Regulation of fatty acid release with particular reference to pituitary factors.
In: RENOLD A.E., and CAHILL jr., G.F.
Handbook of Physiology: Adipose Tissue.
American Physiological Society, Washington, D.2, 331 (1965)

40) LARON Z., and KOWADLO-SILBERGELD A.
Lipolytic activity of enzyme digested human growth hormone.
Acta endocrinologica 100, 144 (1965)

41) TRYGSTAD O.
A lipoid mobilizing peptide prepared from human pituitaries.
Acta endorinologica 100, 143 (1965)

42) LEBOVITZ H.E., and ENGEL F.L.
In vivo and in vitro adipokinetic effects of corticotropin and related peptides.
In: RENOLD A.E., and CAHILL jr. G.F.
Handbook of Physiology: Adipose Tissue.
American Physiological Society, Washingfon, D.2, 541 (1965)

43) STOCK K. und WESTERMANN E.
Zum Mechanismus der lipolytischen Wirkung des adrenocorticotropen Hormons (ACTH).
Nauny-Schmiedebergs Archiv experimenteller Pharmakologie 247, 300 (1965)

44) WHITE J.E., and ENGEL F.L.
Lipolytic action of corticotropin on rat adipose tissue in vitro.
J. clin. Invest. 37, 1557 (1958)

45) STEELMAN S.L., and SMITH W.W.
The adipokinetic activities of the corticotrophins and and melanocyte stimulating hormones.
Acta Endocrinologica 33, 67 (1960)

46) RUDMAN D., and SEIDMAN F.
Lipemia in the rabbit following injection of pituitary extract.
Proc. Sox. Exp. Biol. Med. 99, 146 (1958)

47) RUDMAN D., SEIDMAN F., and REID M.B.
Lipemia-producing activity of pituitary gland: Separation of lipemia-producing component from other pituitary hormones.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 103, 315 (1960)

48) RUDMAN D., DI GIROLAMO M., KENDALL F.E., WERTHEIMER A.R., SEIDMAN F., REID M.B., and BERN S.
Further observations on the effect of pituitary gland extracts upon the serum lipids of the rabbit.
Endocrinology 67, 784 (1960)

49) RUDMAN D., REID M.B., SEIDMAN F., DI GIROLAMO M., WERTHEIMER A.R and BERN S.
Purification and properties of a component of the pituitary gland with producing lipemia in the rabbit.
Endocrinology 68, 273 (1961)

50) RUDMAN D.,SEIDMAN F., BROWN S.J., and HIRSCH R.L.
Adipocinetic activity of porcin fraction H in the rabbit, guinea pig, rat, and mouse.
Endocrinology 70, 233 (1962)

51) RUDMAN D., BROWN S.J., HIRSCH R.L., KENDAL F.E., and SEIDMAN F.
An adipocinetic component of the pituitary gland: Purification, physical, chemical, and biologic properties.
Recent Progr. Hormone Res. 18, 89 (1962)

52) RUDMAN D., BROWN S.J., and MALIN M.F.
Adipokinetic actions of adrenocorticotropin, thyroid-stimulating hormone, vasopressin, alpha- and beta-melanocyte-stimulating hormones, fraction H, epinephrine and norepinephrine in the rabbit, guinea pig, hamster, rat, pig, and dog.
Endocrinology 72, 527 (1963)

53) RUDMAN D., DI GIROLAMO M., MALIN M.F., BROWN S.J., GARCIA L.A., and ABELL L.L.
Inactivation of adrenocorticotropin, alpha- and beta-melanocyte-stimulating hormones, vasopressin, and pituitary fraction H by adipose tissue.
J. Lip. Res. 5, 38 (1964)

54) RUDMAN D., DI GIROLAMO M., MALIN M.F., and GARCIA L.A.
The adipokinetic properties of hypohyseal peptides and catecholamines: A problem in comparative endocrinology.
In: RENOLD A.E., and CAHILL jr. G.F.
Handbook of physiology: Adipose Tissue.
American Physiological Society, Washington, D.2, 533 (1965)

55) FRIESEN H., BARRETT J., AND ASTWOOD E.B.
Metabolic effects of two peptides from the anterior pituitary gland.
Endocrinology 70, 579 (1962)

56) FRIESEN H., IRIE M., and BARRETT R.J.
An immunologic study of two metabolically active peptides from the anterior pituitary gland.
J. Exp. Med. 115, 513 (1962)

57) FRIESEN H., and ASTWOOD E.B.
Hormones of the anterior pituitary body.
New Engl. J. f. Med. 272, 1272 (1965)

58) BIRK Y., and LI Ch.H.
Isolation and properties of a new, biologically active peptide from sheep pituitary glands.
J. Biol. Chem. 239, 1048 (1964)

59) LI H. Ch.
Lipotropin, a new active peptide from pituitary gland.
Nature 201, 924 (1964)

60) BIRK Y., and LI Ch.H.
An efficient mehtod with high yield for the isolation of adrenocorticotropin from sheep pituitaries.
Biochem. Biophys. Acta 82, 430 (1964)

61) LI Ch. H., and LIU W.
Human pituitary growth hormone.
Experienta 20, 169 (1964)

62) SIM A.W., DE VRIES J.W., and VINCENT J.E.
Concentrations of glycerol and non-esterified fatty acids in plasma during fat mobilization.
Biochem. J. 92, 590 (1964)

63) VINCENT J.E., and DE VRIES J.M.
Some effects of a lipid mobilizing preparation of pituitary origin.
Acta endocrinologica 100, 142 (1965)

64) WEIL R., and STETTEN W.
The urinary excretion of a fat-mobilizing agent.
J. Biol. Chem. 168, 129 (1947)

65) CHALMERS T.M., PAWAN G.L.S., and KEKWICK A.
Fat-mobilizing and ketogenic activity of urine extracts: Relations to corticotropin and growth hormone.
Lancet 2, 6 (1960)

66) CHALMERS T.M., KEKWICK A., and PAWAN G.L.S.
On the fat-mobilizing activity of human urine.
Lancet 1, 866 (1958)

67) STEVENSON J.A.F., BOX B.M., and SZLAVKO A.J.
A fat mobilizing and anorectic substance in the urine of fasting rats.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 115, 424 (1964)

68) KARVINEN E., MIETINNEN M., and KARVONEN M.J.
Fat-mobilizing activity of human fasting urine.
Ann. Med. Exper. Fenn. 40, 3 (1962)

69) BRAUNER T., FABRY P., PETRASEK R., and RUDINGER J.
Factor in human urine inhibiting lipid metabolism.
Experientia 19, 319 (1963)

70) DOLE V.P., and MEINERTZ H.
Microdetermination of lang-chain fatty acids in plasma and tissue.
J. Biol. Chem. 235, 2595 (1960)

71) RAPPORT M.M., and ALONZO N.
Photometric determination of fatty acid ester groups in phospholipids.
J. Biol. Chem. 217, 193 (1955)

72) KREUTZ F.H.
Enzymatische Glyzerinbestimmung.
Klin. Wschr. 40, 362 (1962)

73) HUGGET A.ST.G., and NIXON D.A.
Enzymic determination of blood glucose.
Biochem. J. 66, 12 (1957)

74) BÜCHER TH., LAMPRECHT W., HESS B., THORN W. und ROSS G.
Brenztraubensäurebestimmung.
Pflügens Arch. ges. Physiol. 261, 334 (1955)

75) SCHOLZ R., SCHMITZ H., BÜCHNER TH. und LAMPEN J.O.
Milchsäurebestimmung.
Biochem. Z. 331, 71 (1959)

76) WINKLER B., STEELE R., ALTSZULER N., and DE BODO R.C.
Effect of growth hormone on free fatty acid metabolism.
Americ. J. Physiol. 201, 174 (1964)

77) VERNER jr. J.V., BLACKARD W.G., and ENGEL F.L.
Some factors modifying the actions of hormones on glucose-uptake by adipose tissue in vitro.
Endocrinology 70, 420 (1962)

78) BUCKLE R.M., RUBINSTEIN D., MC. GARY E.F.. and BECK J.C.
Factors, influencing the release of free fatty acids from rats adipose tissue.
Endocrinology 69, 1009 (1961)

79) HÖVENER B.
Über die Wirksamkeit eines lipoidmobilisierenden Faktors der menschlichen Hypophyse.
Diese Arbeit wird erst veröffentlicht.

DANK

Das Entstehen dieser Arbeit verdanke ich Herrn Prof. Dr. Schwarz, Oberarzt an der II. Medizinischen Klinik der Universität München, der mir das Thema dieser Arbeit freundlicherweise zur Bearbeitung überließ und mir dazu sein Labor zur Verfügung stellte.

Weiterhin danke ich besonders Herrn Dr. Bottermann, der mich mit Umsicht und Geduld in Theorie und Praxis des Fett- und Glukosestoffwechsels einwies und keine Mühe scheute, mich sowohl bei der Durchführung der Versuche, als auch bei der Niederschrift der Ergebnisse durch wertvolle Ratschläge zu unterstützen.

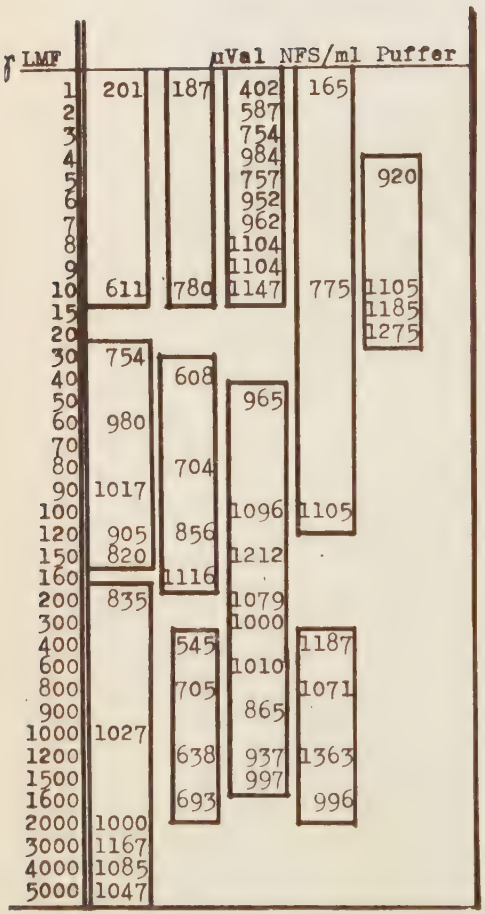
Auch allen Assistentinnen des Labors, insbesondere Frl. Schwarz, die mir sowohl bei der Materialbeschaffung als auch bei der Durchführung der Versuche hilfreich zur Seite stand, sei vielmals gedankt.

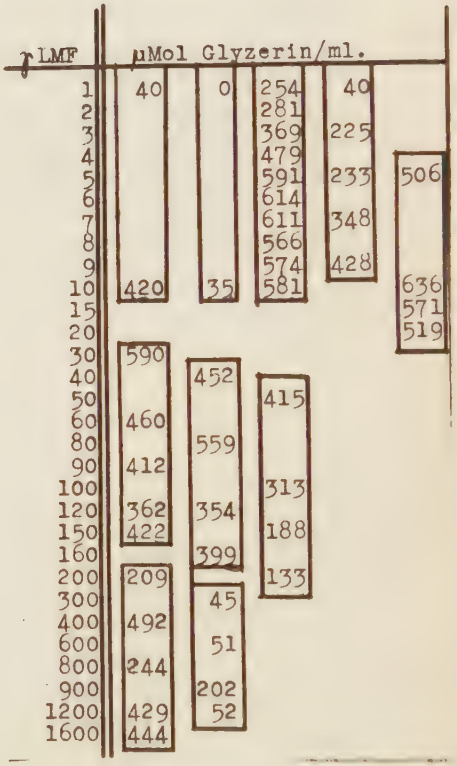
LEBENSLAUF

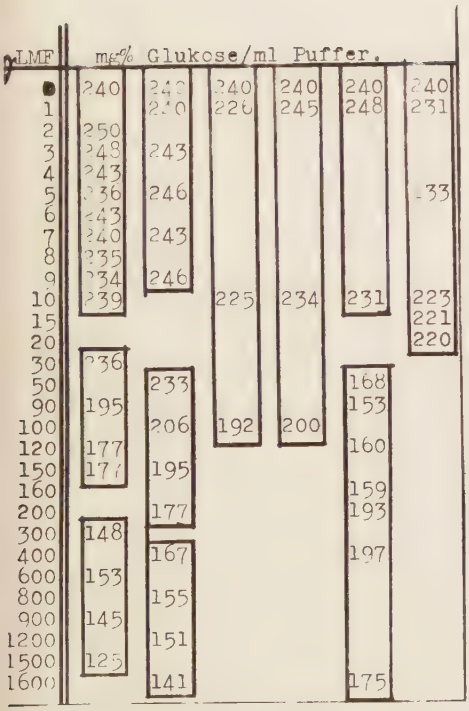
Am 7.August 1939 wurde ich, Volker Hans Hermann B a r t h, als Sohn des HNO-Professors an der Berliner Charitè Dr. med. Hermann Barth und seiner Frau Heidi Barth, geb. Sander, in Berlin geboren.
Seit 1946 lebe ich in Lenggries/Obb., wo ich im Jahre 1946 in die Volksschule eintrat.
1952 bestand ich die Aufnahmeprüfung in die Oberrealschule Bad Tölz, wo ich im Sommer 1960 die Reifeprüfung ablegte.
Im Herbst 1960 immatrikulierte ich an der Medizinischen Fakultät der Universität München und legte im 5. Semester das Physikum und nach dem 11. Semester im Frühjahr 1966 mein medizinisches Staatsexamen mit der Note 1 ab.
Seit 1. August 1966 war ich am Kreiskrankenhaus Kaufbeuren, seit 1. September 1967 bin ich am Gemeindlichen Krankenhaus in Oberstdorf als Medizinalassistent tätig.

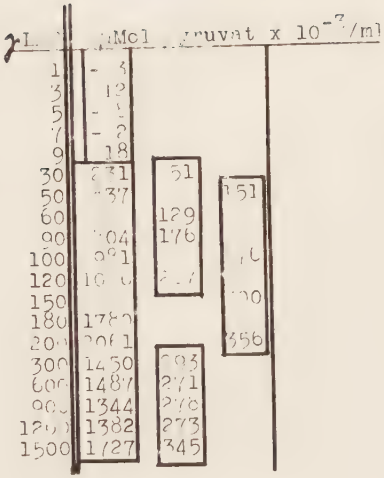
ANHANG

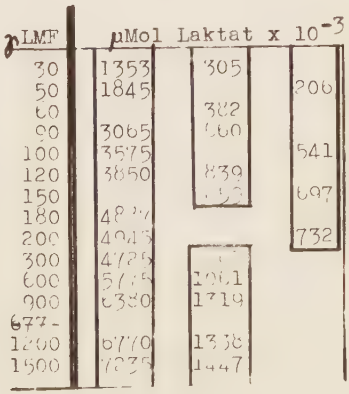
Ausführliche Legende siehe bei den Ergebnissen






µLMF
m% Glukose/ml Puffer.
240 240 240 240 240 240
1 240 240 226 245 248 231
2 250
3 248 243
4 243
5 236 246 233
6 243
7 240 243
8 235
9 234 246
10 239 225 234 231 223
15 221
20 220
30 236
50 233 168
90 195 206 153
100 192 200
120 177 160
150 174 195
160 159
200 177 193
300 148 197
400 167
600 153 155
800
900 145 151
1200
1500 125 141 175
1600


µL
µMol Brenztraubensäure x 10⁻³/ml
1
3 12
5
7 2
9 18
30 231 51
50 237
60
90 129
100 176
120
150
180 178
200 2061
300 1430 693
600 1487 271
900 1344
1200 1382 273
1500 1727 345


µLMF
µMol Laktat x 10⁻³
30 1353 305
50 1845 206
60 382
90 3065
100 3575 541
120 3850 839
150 697
180
200
300
600 1719
900
1200 1338
1500 1447 732